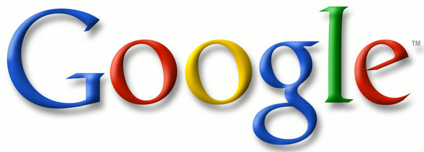
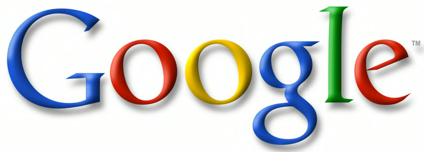

Google




3 2044 106 391 303

# LEITFADEN

DER

# BOTANISCHEN

# MIKROSKOPIE

VON

WILHELM BEHRENS

MIT 150 ABBILDUNGEN IN HOLZSCHNITT

BRAUNSCHWEIG
HARALD BRUHN
Verlagsbuchhandlung für Naturwissenschaft und Medicin
1890

# Vorwort.

---

Das vorliegende Werkchen mag angesehen werden als eine Neubearbeitung der ersten drei Abschnitte meines 1883 in gleichem Verlage erschienenen Buches: „Hilfsbuch zur Ausführung mikroskopischer Arbeiten im Botanischen Laboratorium". Als mir vor längerer Zeit der Herr Verleger die Mittheilung machte, dass von dem „Hilfsbuch" eine neue Auflage nöthig werde und ich in Folge dessen die Vorarbeiten zu einer solchen in Angriff nahm, musste ich alsbald einsehen, dass die Neubearbeitung jenes Werkes Jahre in Anspruch nehmen werde. Der Schwerpunkt des „Hilfsbuches" liegt in den beiden letzten Abschnitten, den mikroskopischen Nachweis der Pflanzenstoffe behandelnd; die zahlreichen Errungenschaften des letzten Jahrzehnts einestheils, die der Ueberarbeitung bedürfen, die grossen Lücken auf jenem weiten Gebiete anderntheils, die vielerorts eigene und langwierige Untersuchungen bedingen, lassen die Beendigung jener Neubearbeitung als noch in weite Ferne gerückt erscheinen.

Es schien daher wünschenswerth, zunächst eine Neubearbeitung des ersten Theiles jenes Buches zu unternehmen, der sich mit dem Mikroskop und den zugehörigen Apparaten, sowie mit der Herstellung mikroskopischer Präparate befasst, und zwar in abgekürzter Form, während eine Darlegung dieser Dinge in extenso der neuen Auflage des Hilfsbuches gleichfalls vorbehalten bleiben muss. Diese Bearbeitung wurde aus dem Grunde sowohl vom Verleger wie vom Verfasser für wünschenswerth erachtet, weil eine grosse Zahl der Benutzer das Buch

besonders dieser mehr propädeutischen Dinge wegen anschaffen dürften, und weil diesen Benutzern vor Allem etwas der Neuzeit Entsprechendes geboten werden sollte. Denn die correspondirenden Theile des Hilfsbuches wurden zu einer Zeit verfasst (1880), als die einschlägigen Arbeiten ABBE's über die Theorie des Mikroskopes zum allergrössten Theile noch nicht erschienen waren, und als auch die vorhandenen die Aufmerksamkeit des Mikroskopikers noch kaum auf sich gelenkt hatten. Daraus folgt, dass das Hilfsbuch in den das Mikroskop behandelnden Theilen heute kaum mehr brauchbar ist, und dass man gerade hier in erster Linie etwas Neues an die Stelle setzen musste. Dies konnte um so leichter geschehen, als der Verfasser für eine andere Publication[1] eine kurze Darstellung der Lehre vom Mikroskop und seiner Nebenapparate zu verfassen hatte, welche zu dem vorliegenden Leitfaden, unter entsprechenden Veränderungen für die speciellen Wünsche des Botanikers, benutzt werden konnte.

Wenn sich nun auch genetisch dieses Werkchen an das Hilfsbuch des Verfassers anlehnt, so stellt es anderseits eine vollkommen neue, von Grund aus geschaffene Bearbeitung, keineswegs einen vielleicht etwas veränderten Neudruck dar. In demselben war man bestrebt, allen neuen Errungenschaften, soweit sie in Frage kommen, Rechnung zu tragen, ohne aber durch den schwerfälligen Apparat der Literaturcitate den Umfang zu vergrössern, wenn auch nicht unerwähnt bleiben soll, dass die vorhandene Literatur in ausgiebigster Weise zu Rathe gezogen und geprüft worden ist. Der kundige Leser wird sodann eine Reihe neuer Methoden etc. in dem Buche entdecken, die hier zum ersten Male an die Oeffentlichkeit treten, ohne dass der Verf. es für nöthig befand, bei denselben stets mit Nachdruck auf seine Autorschaft hinzuweisen. — Anderseits ist von dem in der Literatur Bekanntgegebenen nur ein kleiner Bruchtheil, als für die Zwecke des Anfängers passend, berücksichtigt worden, denn für den Anfänger soll in erster Linie dieses Werkchen berechnet sein, und wir empfehlen ihm, neben demselben, nämlich um sich bezüglich der einzelnen zu studirenden mikroskopi-

---

[1] BEHRENS, W., KOSSEL, A., und SCHIEFFERDECKER, P., Die Gewebe des menschlichen Körpers und ihre mikroskopische Untersuchung. Bd. I. Das Mikroskop und die Methoden der mikroskopischen Untersuchung. Braunschweig (Bruhn) 1889.

schen Objecte zu informiren, das „Kleine Botanische Practikum“ von Ed. Strasburger zu benutzen.

Eine besondere Sorgfalt hat der Verfasser auf die Zahlenangaben in dem Werkchen verwandt. Man findet gewöhnlich bei der Beschreibung von Recepten Angaben, die der positiven Zahlen gänzlich ermangeln: zum Unterschiede wird man in den nachfolgenden Blättern ausnahmslos positive Zahlenangaben vor sich haben, die zum nicht geringen Theile zum vorliegenden Zwecke eigens, oft auf zeitraubendem Wege, ermittelt wurden. Selbst die Angaben physikalischer Werthe, z. B. der Brechungsindices, beruhen grösstentheils auf eigenen Bestimmungen des Verfassers.

Für die Gediegenheit der Ausstattung und der Abbildungen bürgt der Name des Herrn Verlegers, dessen hervorragende Leistungen auf diesem Gebiete bekannt sind.

Göttingen, 17. October 1890.

**W. Behrens.**

# Inhaltsverzeichniss.

Erster Abschnitt.

## Das Mikroskop und die mikroskopischen Nebenapparate.



Zweiter Abschnitt.

## Das mikroskopische Präparat.

ERSTER ABSCHNITT.

# Das Mikroskop und die mikroskopischen Nebenapparate.

---

## I. Einleitung.

Der Raum (Weltraum), welcher die uns bekannten Dinge umschliesst, ist mit einem hypothetischen Stoff von äusserst geringem specifischen Gewicht erfüllt, dem Aether oder Lichtäther. Den Ruhezustand des Lichtäthers nennen wir Dunkelheit, den auf die in der Retina ausgebreiteten Sehnerven wirkenden Bewegungszustand desselben Licht. Der Bewegungszustand des Aethers wird hervorgerufen durch gewisse Körper, welche wir selbstleuchtende nennen. Viele Körper setzen der Bewegung des Aethers ein Hinderniss entgegen, andere gestatten der Aetherbewegung den Durchtritt; erstere heissen undurchsichtige, letztere durchsichtige Körper.

Jeder selbstleuchtende Körper setzt den Lichtäther nach allen Richtungen des Raumes in Bewegung. Die Fortpflanzungsgeschwindigkeit der Aetherbewegung (des Lichtes) ist eine sehr grosse, nämlich 40200 geographische Meilen (ungefähr 300 Millionen Meter) in der Secunde. Die Fortpflanzungsrichtung der Aetherbewegung (des Lichtes) ist geradlinig; jeder leuchtende Körper sendet unendlich viele, überall hin gewandte Fortpflanzungsrichtungen oder Lichtstrahlen aus, deren jeder eine gerade Linie darstellt. Denn bringt man zwischen das Auge, als das das Licht wahrnehmende Organ und den leuchtenden Körper einen undurchsichtigen, so wird der erstere unsichtbar, die Lichtempfindung auf das Auge hört auf, was nicht möglich wäre, wenn das Licht sich anders als geradlinig fortpflanzte.

Die Bewegungsart des Lichtäthers ist eine Wellenbewegung. Die in Bewegung gesetzten Aethertheilchen bewegen sich also nicht etwa in der Richtung des Lichtstrahls fort, sondern sie vollführen Schwingungen nach allen Richtungen in zur Richtung des Strahls senkrechten Ebenen. Die Wellenlänge der schwingenden Aethertheilchen beträgt für das gewöhnliche Tageslicht 0·00055 mm; es würden also beinahe 2000 hinter einander liegende Lichtwellen die Länge eines Millimeters ergeben. Die Wellen der schwingenden Aethertheilchen sind nicht immer von derselben Länge, sie sind vielmehr gewissen Schwankungen unterworfen. Die längsten Wellen sind ungefähr 0·00076 mm, die kürzesten 0·00040 mm lang. Die Wirkungen, welche verschiedene Wellenlängen auf das Auge hervorbringen, sind verschieden, wir bezeichnen sie als die Farbe des Lichtes. Die Wirkung einer sehr langen Welle (wenn also die Retina in einer gegebenen Zeit verhältnissmässig wenige Anstösse durch die oscillirenden Aethertheilchen empfängt) nennen wir Roth, die durch sehr kurze Wellenlängen hervorgebrachte Wirkung Violett. Das farblose Tages- oder Sonnenlicht ist ein Gemisch sämmtlicher Lichtfarben, also auch gleichsam ein Gemisch sämmtlicher Wellenlängen [1].

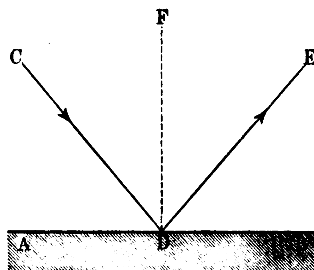
Wenn ein Lichtstrahl auf einen eine völlige oder annähernde Ebene darstellenden Körper trifft, so wird er von diesem (spiegelnden) Körper von seinem Wege abgelenkt, er wird zurückgeworfen, reflectirt, es findet eine Reflexion des Lichtstrahles statt. Diese Reflexion kommt auf folgende Weise zu Stande. Sei $AB$ (Figur 1) die spiegelnde Fläche, $CD$ der auf dieselbe unter einem Winkel treffende Lichtstrahl (der einfallende Strahl), $DE$ der zurückgeworfene oder reflectirte Strahl, so ist die Richtung des Strahles nach der Reflexion derart, dass der Winkel $CDA$ oder der Einfallswinkel gleich dem Winkel $EDB$ oder dem Reflexionswinkel ist. Errichtet man in $D$ eine Senkrechte (Einfallsloth) zu $AB$, so liegen $CD$, $ED$ und $DF$ in derselben Ebene. Bei der Reflexion eines Lichtstrahls liegen der Einfallsstrahl, der Ausfallsstrahl und das Einfallsloth in derselben Ebene und der Einfallswinkel ist gleich dem Reflexionswinkel.

---

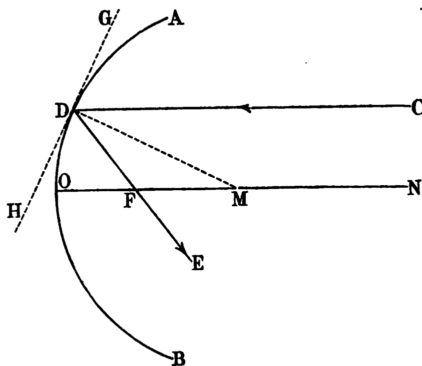
[1]) Man bezeichnet in der Optik die Länge einer Lichtwelle mit $\lambda$ und fügt, um die Farbe des Lichtes auszudrücken, die Bezeichnung einer in dieser Farbe gelegenen Fraunhofer'schen Linie (s. u. unter Spectroskop) an. Es ist dann z. B. (nach Ångström) die Wellenlänge des rothen Lichtes $\lambda_A$ = 0·00076040 mm, die des gelben $\lambda_D$ = 0·00058891 mm, die des violetten Lichtes $\lambda_H$ = 0·00039681 mm.

Hieraus ergiebt sich, dass, wenn mehrere parallele Lichtstrahlen von einer spiegelnden Ebene reflectirt werden, dieselben nach der Reflexion als gleichfalls parallele Strahlen ihren Weg fortsetzen. Werden dagegen divergente, d. h. von einem leuchtenden Punkte nach verschiedenen Richtungen ausgehende Strahlen von einer spiegelnden Fläche reflectirt, so werden sie nach der Reflexion als divergente Strahlen ihren Weg fortsetzen.

Ist der spiegelnde Körper keine Ebene, sondern ein hohles (concaves) Kugelsegment (ein Hohlspiegel, *A B*, Figur 2), so findet man den Reflexionsweg eines beliebigen Lichtstrahles *C D* auf die Weise, dass man im Punkte *D*, wo der Lichtstrahl die spiegelnde Curve trifft, die Tangente *G H* construirt und bezüglich dieser den Weg des Strahles wie in Figur 1 bestimmt. Es zeigt sich dann, dass der reflectirte Strahl *D E* in diesem Falle (beim sphärischen Hohlspiegel) die Eigenthümlichkeit hat, eine Linie *O M N* zu schneiden (in *F*), welche man erhält, wenn man den Mittelpunkt *M* der Hohlkugel mit der Mitte *O* des spiegelnden Segmentes verbindet. Sie heisst die Brennlinie und wird von den auf verschiedene Punkte des Spiegels fallenden, reflectirten Strahlen an verschiedenen Punkten getroffen. Stellt hingegen der Hohlspiegel ein Stück eines Paraboloïdes dar, so werden alle auf ihn fallenden Lichtstrahlen nach der Reflexion in einem einzigen Punkte, dem Brennpunkte vereinigt. Es ist dies eine Eigenschaft des parabolischen Hohlspiegels, von der, wie wir später sehen werden, beim Mikroskop der ausgedehnteste Gebrauch gemacht wird. —



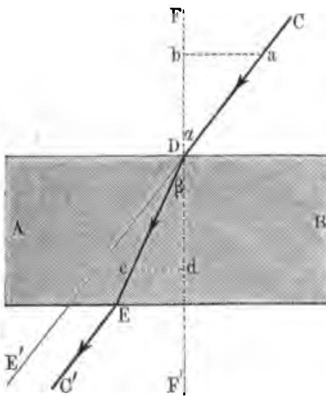
1.



2.

Nehmen wir an, ein Lichtstrahl *C D* (Figur 3) trete aus einem durchsichtigen Medium, z. B. aus der Luft, in ein anderes durchsichtiges Medium von verschiedener Dichte, z. B. in Glas (*A B*), so verfolgt er

in diesem letzten Medium nicht dieselbe Richtung $DE'$. Er wird vielmehr von dieser Richtung durch das zweite Medium abgelenkt, er wird **gebrochen**, und zwar je nach der Natur desselben mehr oder minder. Es ist ja eine bekannte Thatsache, dass ein ins Wasser getauchter Stock gebrochen erscheint. Der Lichtstrahl verfolgt nun in dem Medium $AB$ beispielsweise die Richtung $DE$. Die Grösse dieser Ablenkung ist für jedes Medium eine constante, und zwar ist die Abweichung von dem Wege $DE'$ um so grösser, je dichter das Medium $AB$ ist. Errichtet man in dem Punkte $D$ (dem Einfallspunkte des Strahles $CD$) das Einfallsloth $FDF'$, so heisst $\sphericalangle\ CDF$, resp. $\sphericalangle\ \alpha$ der Einfallswinkel, $\sphericalangle\ EDF'$ resp. $\sphericalangle\ \beta$ der Brechungswinkel. Macht man $Da = Dc$ und construirt von $a$ und $c$ aus auf die Linie $FF'$ die Lothe $ab$ und $cd$, so ergiebt sich aus der Division der beiden Linien $\frac{ab}{cd}$ stets derselbe Werth für dieselben Medien, unter welcher Neigung auch der Strahl $CD$ das Medium $AB$ treffen mag. Die Linie $ab$ stellt aber den Sinus des Winkels $\alpha$, $cd$ den Sinus des Winkels $\beta$ dar. Wir nennen den in einer Zahl ausgedrückten Werth, der aus der Division beider Sinusse sich ergiebt, den **Brechungsindex** ($n$) des betreffenden Mediums. Oder mit anderen Worten: **Der Brechungsindex für ein bestimmtes Medium ist das für dieses constante Verhältniss zwischen dem Sinus des Einfallswinkels und dem Sinus des Brechungswinkels:**



3.

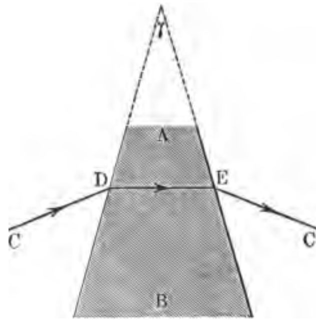
$$\frac{\sin\ \alpha}{\sin\ \beta} = n.$$

Der Brechungsindex wird stets auf die Luft als Einheit bezogen. Es ist dieses Verhältniss z. B., wenn ein Lichtstrahl aus der Luft in Wasser tritt = 1·33, wenn er aus der Luft in Glas tritt = 1·52, wenn er aus der Luft in Schwefelkohlenstoff tritt = 1·62. Oder, der Brechungsindex des Wassers ist 1·33, der des Glases 1·52, der des Schwefelkohlenstoffes 1·62.

Ist, wie in Figur 3, das Uebergangsmedium eine Platte mit planparallelen Seiten, so tritt, wie eine einfache Ueberlegung ergiebt, der Lichtstrahl $CDEC'$ an der unteren Fläche von $AB$ in einer zum

Einfallsstrahl $CD$ parallelen Richtung, und mit ihm, mit $DE$ und dem Einfallsloth $FF'$ in derselben Ebene liegend hervor. Es findet bei diesem Vorgange also nur eine von der Grösse des Einfallswinkels, dem Brechungsindex und der Dicke der Platte abhängige Parallelverschiebung des Strahles statt.

Anders jedoch verhält sich die Sache, wenn die ebenen Begrenzungsflächen des brechenden Mediums in irgend einem Winkel gegen einander geneigt sind. Dann nämlich wird der Strahl, wie aus Figur 4 ersichtlich ist, gänzlich von einer Bahn abgelenkt, und die Grösse dieser Ablenkung ist wesentlich bedingt durch die Grösse des Einfallswinkels und durch die Grösse der Neigung beider brechenden Ebenen (den brechenden Winkel $\gamma$). Es ist hier nicht der Ort, die allgemeine, ziemlich complicirte Formel für diese Grösse zu entwickeln, da dieselbe für uns nicht in Betracht kommt. Wichtig dagegen für uns ist die folgende, bei diesem Vorgange auftretende Erscheinung. Ist der durch ein Medium mit convergirenden Seiten (Prisma) zweifach gebrochene Lichtstrahl nicht einfarbiges (monochromatisches) Licht, sondern sendet man durch das Prisma ein bandrörmiges Bündel weissen Sonnenlichtes, so erscheint in $C'$ nach der zweimaligen Brechung nicht ein gleiches, weisses Lichtband, sondern es erscheint hier ein langer, verschiedenfarbiger Lichtstreifen, ein sogenanntes Spectrum. Die Anordnung der Farben in diesem Spectrum ist die gleiche wie im Regenbogen, nämlich Roth, Orange, Gelb, Grün, Blau, Violett. Die Erscheinung erklärt sich folgendermaassen. Das weisse Sonnenlicht ist, wie wir oben (p. 2) sahen, ein Gemisch von Lichtstrahlen verschiedener Wellenlängen. Die Strahlen verschiedener Wellenlängen erleiden nun eine verschieden starke Brechung, und zwar werden die rothen Strahlen am geringsten, die violetten am stärksten gebrochen [1]. Die Folge davon ist, dass bei diesem Vorgange das Lichtgemisch in seine einzelnen Bestandtheile auf-

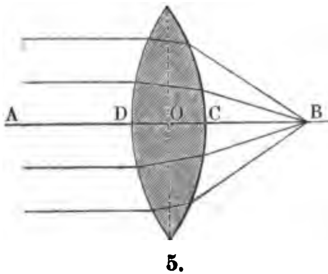


4.

[1]) Der Brechungsindex drückt eben das Verhältniss der Fortpflanzungsgeschwindigkeit in der Luft und in dem brechenden Medium aus. So ist z. B. der Brechungsindex des Crownglases für rothes Licht $n_B = 1{\cdot}5258$, für gelbes $n_D = 1{\cdot}5296$, für violettes $n_H = 1{\cdot}5466$ (*B, D, H* bezeichnen wie oben p. 2 Anm. Fraunhofer'sche Linien).

gelöst wird; es findet eine Farbenzerstreuung, eine Dispersion des Lichtes statt. Statt des weissen Lichtbandes erscheint ein violettes Lichtband von den am stärksten gebrochenen Strahlen, darüber ein blaues, grünes, gelbes, orangenes, und zu oberst ein rothes Lichtband für die am wenigsten gebrochenen Strahlen. Alle diese Farbenbilder sind durch Uebergangsfarben mit einander verbunden. —

Bislang haben wir die Brechung von Lichtstrahlen in Medien, die durch Ebenen begrenzt waren, betrachtet. Wichtiger noch sind für unsere Zwecke jene Brechungserscheinungen, die an solchen durchsichtigen Medien beobachtet werden, welche eine gekrümmte Oberfläche besitzen, oder genauer gesagt, welche von Kugelflächen begrenzt werden. Solche Medien nennt man Linsen, sie sind z. B. bei der Lupe allgemein bekannt. Wenn man eine Linse, die beispielsweise von zwei Kugelsegmenten begrenzt sein soll, von dem aus parallelen Lichtstrahlen bestehenden Sonnenlicht bescheinen lässt und unter die Linse ein Stück Papier hält, so bemerkt man bei geeigneter Stellung des Papieres auf demselben einen äusserst hellen Lichtpunkt, und dünnes Papier wird an dieser Stelle sehr bald zu verkohlen und zu verbrennen beginnen. Aus diesem Versuche folgt, dass die Linse die Eigenthümlichkeit besitzt, die auf sie fallenden parallelen Lichtstrahlen derartig zu brechen, dass sie auf der anderen Linsenseite alle in einem Punkte vereinigt, gesammelt, concentrirt werden. Figur 5 giebt ein schematisches Bild des Vorganges. Wegen der oben angedeuteten Eigenschaft heisst der Vereinigungspunkt der Brennpunkt oder Focus (*B*) der Linse. Da wir das eben beschriebene Experiment auch anstellen können, wenn wir die Linse umdrehen, so folgt, dass die Linse zwei Brennpunkte (*A*, *B*) besitzt. Verbindet man die beiden Brennpunkte mit einander, so geht diese Linie durch den Mittelpunkt oder das Centrum (*O*) der Linse, und zugleich durch ihre Scheitelpunkte (*C*, *D*). Die Linie *AB* wird die optische Achse der Linse genannt. Der Abstand von *C* bis *B* oder von *D* bis *A* heisst die Brennweite; sie ist um so kleiner, je gewölbter die Linse ist.

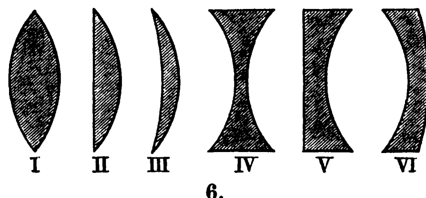


5.

Die Eigenschaft, die auf sie fallenden Lichtstrahlen zu sammeln, besitzen nur die von mindestens einer convexen Oberfläche begrenzten Linsen. Sie werden daher Sammellinsen genannt. Die von einer

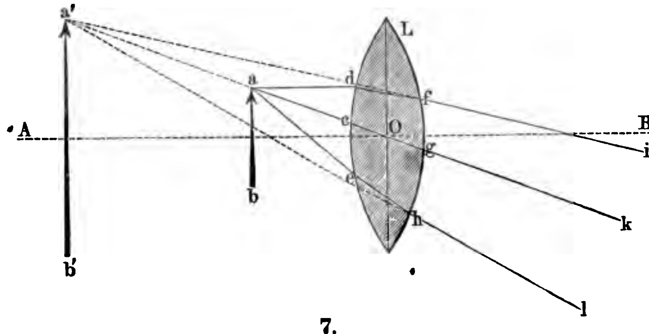
oder mehreren concaven Oberflächen begrenzten Linsen haben dagegen die Eigenschaft, auf sie fallende parallele Strahlenbündel in divergente zu verwandeln, sie zu zerstreuen, und man nennt sie daher Zerstreuungslinsen. Die verschiedenen, beim Mikroskop in Anwendung kommenden Sammellinsen heissen biconvex (Figur 6, I), planconvex (II), concavconvex (III), die Zerstreuungslinsen biconcav (IV), planconcav (V), convexconcav (VI). —

Jeder selbstleuchtende oder beleuchtete Körper sendet von jedem Punkte divergirende Strahlenbündel aus, welche, wenn sie z. B. auf eine biconvexe Linse treffen, unter einer von der Einfallsrichtung, dem Krümmungshalbmesser der Linse und dem Brechungsindex derselben abhängigen Weise gebrochen, durch dieselbe hindurchtreten. Sei $L$ (Figur 7) eine biconvexe Linse, $ab$ ein im Brennpunkte vor derselben befindliches Object. Betrachten wir drei vom Punkt $a$ derselben ausgehende Lichtstrahlen, welche die Linse in $d$, $c$, $e$ treffen. Der den Mittelpunkt $O$ der Linse schneidende Strahl $ac$ geht ungebrochen durch dieselbe hindurch (alle den Mittelpunkt schneidenden Strahlen haben diese Eigenschaft), $ak$ ist also eine gerade Linie. Der Strahl $ad$ hingegen wird in $d$ und $f$ gebrochen und tritt in der Richtung $fi$ aus derselben hervor, der Strahl $ae$ in $e$ und $h$, und hat nach dem Austritt die Richtung $hl$. Das Strahlenbündel $d\,a\,e$ wird also durch die Linse in ein viel weniger divergentes verwandelt, nämlich in das Bündel $i\,a'\,l$, und einem an die Austrittsseite der Linse gehaltenen Auge würde das Strahlenbündel nicht als von $a$ sondern als von $a'$ ausgehend erscheinen. Ebenso wie der Punkt $a$ verhalten sich alle Punkte des Objectes $a\,b$, die Folge davon ist, dass durch die Wirkung der Sammellinse das Object gesehen wird, als ob es die Grösse $a'\,b'$ hätte. Es wird durch die Linse ein vergrössertes, scheinbares, ein virtuelles Bild des Objectes erzeugt, oder, wie man gewöhnlich sagt, das Object wird vergrössert, eine Eigenschaft der Sammellinsen, die Jedem bei der Lupe bekannt ist. Aber diese Vergrösserung ist nur eine Folge davon, dass durch die Lupenwirkung der Sehwinkel vergrössert wird, durch ihre Wirkung wird das Object dem Auge gleichsam näher gerückt. — Während die Sammellinsen eine Vergrösserung des Objectes zu Wege bringen, findet durch die Zerstreuungslinsen eine Verkleinerung desselben statt.



6.

Wenn man vor eine, auf einem Stativ senkrecht befestigte, biconvexe Linse etwas vor dem Brennpunkte eine Flamme aufstellt und auf der anderen Seite der Linse einen Papierschirm verschiebbar anbringt, so erscheint bei einer gewissen Stellung des Schirmes auf demselben das umgekehrte Bild der Flamme. Da man dieses von der Linse erzeugte Bild auf einem Schirme auffangen und wie irgend eine andere Abbil-



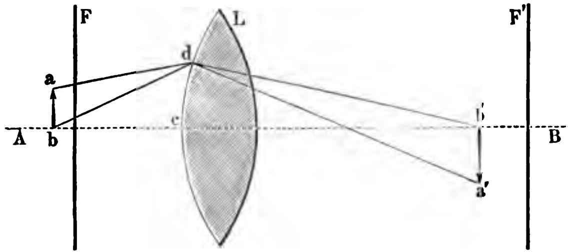

7.

dung betrachten kann, so nennt man es ein wirkliches oder reelles Bild im Gegensatze zu dem eben betrachteten virtuellen.

Wie oben erwähnt, sendet jeder Punkt eines Objectes divergirende Lichtkegel aus, welche, wenn sie sich stets in demselben Medium fortbewegten, nicht wieder zur Vereinigung kommen würden. Trifft aber ein Strahlenkegel auf eine Sammellinse, so wird er durch dieselbe gebrochen, und er wird alsdann auf der anderen Seite der Linse an einer gewissen Stelle wieder zu einem Lichtpunkte vereinigt. Die Entfernung dieses Punktes ist wesentlich abhängig von dem Abstande des Objectes von der Linse.

Es sei $L$ (Figur 8) eine von mindestens einem Kugelsegment begrenzte Linse, $AB$ deren optische Achse, $ab$ ein selbstleuchtendes oder beleuchtetes Object. Dieses sende die beiden Strahlenkegel $ad$ und $bd$ auf das brechende Medium, so wird der hier als Linie dargestellte Strahlenkegel $ad$ in der Richtung $d\,a'$ gebrochen, und die Wiedervereinigung seiner Strahlen findet in dem Punkte $a'$ statt. Der Strahlenkegel $bd$ verfolgt nach der Brechung den Weg $d\,b'$, sein Vereinigungspunkt liegt in $b'$. Die Punkte $a$, $b$ heissen Objectpunkte oder Leuchtpunkte, $a'$, $b'$ Bildpunkte. Objectpunkte und Bildpunkte stehen in einem gewissen Zusammenhange, es sind conjugirte Punkte. Werden $a'\,b'$ zu Objectpunkten, so sind $a$, $b$ ihre Bildpunkte (beide sind reciprok). Liegen $ab$ in einer Ebene (Objectebene), so thun

es auch *a'b'* (Bildebene). Bringen wir in die Bildebene ein Stück Papier, so erscheint auf dieser das (wie aus der Figur ersichtlich) umgekehrte Bild von *ab*. Zugleich erscheint dieses reelle Bild in gewisser Vergrösserung, welche wiederum abhängig ist von dem Krümmungshalbmesser der brechenden Linse und dem Abstande des Objectes von letzterer, denn die Achsenabstände *cb* des Objectes und die Achsenab-




8.

stände *cb'* des Bildes sind stets proportional. Würde also die Objectebene nach *F* verlegt, so würde dieses auch eine Verschiebung der Bildebene nach *F'* zur Folge haben, respective eine relativ stärkere Vergrösserung des Bildes.

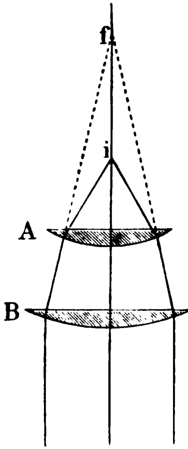
Statt die Erzeugung eines reellen Bildes durch eine einzige Linse zu bewerkstelligen, lassen sich zu diesem Zwecke auch deren mehrere verwenden, und die Vereinigung mehrerer solcher Linsen nennt man ein optisches System oder kurz ein System. Es ist jedoch erforderlich, dass die optischen Achsen aller zu einem System verbundenen Linsen in einer geraden Linie liegen, das System muss centrirt sein.

---

## II. Das Präparirmikroskop.

Wir haben oben erfahren (p. 7), dass eine Sammellinse die Eigenschaft besitzt, von einem Objecte ein vergrössertes, virtuelles Bild zu liefern, indem sie das Object gleichsam dem Auge näher rückt, den Sehwinkel vergrössert. Die bekannte Lupe ist der einfachste derartige Apparat. Zu demselben Zwecke lassen sich auch mehrere Sammellinsen vereinigen, und zwar erreicht man hierdurch eine Verkürzung der Brennweite oberhalb der Combination, somit eine stärkere Vergrösserung,

während der Abstand des Objectes vom Scheitel der unteren Linse unverändert bleibt. Eine solche Vereinigung von zwei Linsen nennt man ein Doublet, von dreien ein Triplet. Figur 9 stellt beispielsweise die Wirkung eines aus den Sammellinsen $A$ und $B$ zusammengesetzten Doublets dar. Der Brennpunkt der Linse $B$ alleingenommen würde in $f$ liegen, fügt man aber über $B$ die Linse $A$ ein, so wird er hierdurch nach $i$ verlegt, die Brennweite ist also um das Stück $fi$ verkürzt. Hierbei ist es gleichgiltig, ob die Linsen, wenn sie wie hier planconvex sind, dem Objecte die convexe oder die plane Seite zukehren. —



9.

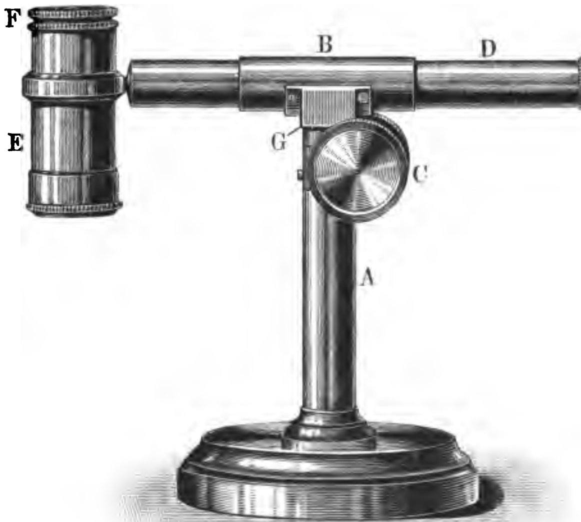
Will man unter der Lupe Gegenstände präpariren, so hat man dazu die Hände nöthig, und man kann diese nicht zugleich verwenden, um die Lupe zu halten. Daher muss die Präparirlupe montirt sein, d. h. sie muss auf einem Gestelle befestigt sein, welches gestattet, ihr jede gewünschte Stellung zu geben und sie in dieser Stellung dauernd zu erhalten. Derartige Lupenträger existiren in vielfachen Formen; in neuester Zeit hat Th. v. Weinzierl eine solche, verbesserte Stativ-



10.

lupe construirt, welche von der Firma Reichert in Wien für 20 fl. geliefert wird (Figur 10; $^1/_3$ der natürlichen Grösse). Eine auf einem

schweren Metallfuss befestigte, senkrechte Metallsäule trägt zwei Lupenarme, welche mittels eines Gelenkes beweglich sind, ausserdem auf der Säule höher oder niedriger geschoben, in der jeweiligen Stellung fixirt werden können und sich um eine unter den Schrauben sichtbare Führung um die Säule drehen lassen. Der obere Lupenarm trägt eine grosse, schwache, biconvexe Linse von 9 cm Durchmesser und 25 cm Brennweite (*1*); sie vergrössert $2\frac{1}{3}$mal. Die untere Lupe (*2*) stellt ein (achromatisches s. u.) Doublet von 29 mm Durchmesser, einer Brenn-

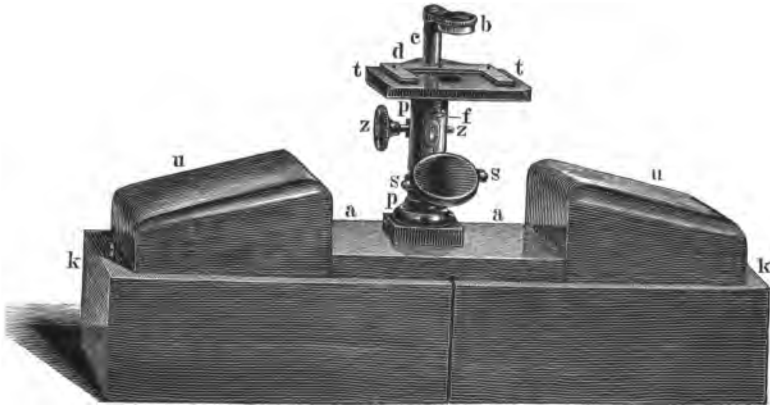



11.

weite von 14 cm und 5maliger Vergrösserung dar. Man kann die obere Lupe für schwache, die untere für stärkere Vergrösserungen, endlich auch beide gleichzeitig benutzen.

Wo es darauf ankommt, bei schwachen Vergrösserungen einen sehr weiten Abstand von dem zu präparirenden Objecte zu ermöglichen, und die Vergrösserungen in gewissen Grenzen leicht zu verändern, ist die sogenannte Brücke'sche Lupe empfehlenswerth. Das Eigenthümliche derselben besteht darin, dass sich über einem aus zwei planconvexen Linsen bestehenden Doublet verschiebbar eine Biconcavlinse befindet. Durch eine weitere Entfernung der Concavlinse vom Doublet lässt sich die Vergrösserung des Apparates etwas erhöhen. Eine neue Form der Brücke'schen Lupe zu Präparirzwecken ist kürzlich von Franz Eilhart Schulze angegeben (Figur 11; halbe natürliche Grösse); sie ist von

Klönne und Müller in Berlin für 50 M. zu beziehen. Auf einem gusseisernen Fusse erhebt sich die Messingsäule *A*; innerhalb derselben kann durch den Trieb *C* der ganze Lupenkörper gehoben und gesenkt werden, der bei *G* ausserdem um seine Achse drehbar ist. Die Achse trägt oben die Horizontalhülse *B*, in welcher der Stab *D* verschiebbar steckt. An seinem vorderen Ende befindet sich die Lupe. Unten bei *E* trägt die Messingröhre das Doublet, oben bei *F* befindet sich das Concavglas. Es ist in der Abbildung dem Doublet möglichst nahe dargestellt; es lässt sich, indem man an den gekerbten Rand fasst, unter Verstärkung der Vergrösserung (4- und 6mal bei 25 cm Sehweite) ausziehen.

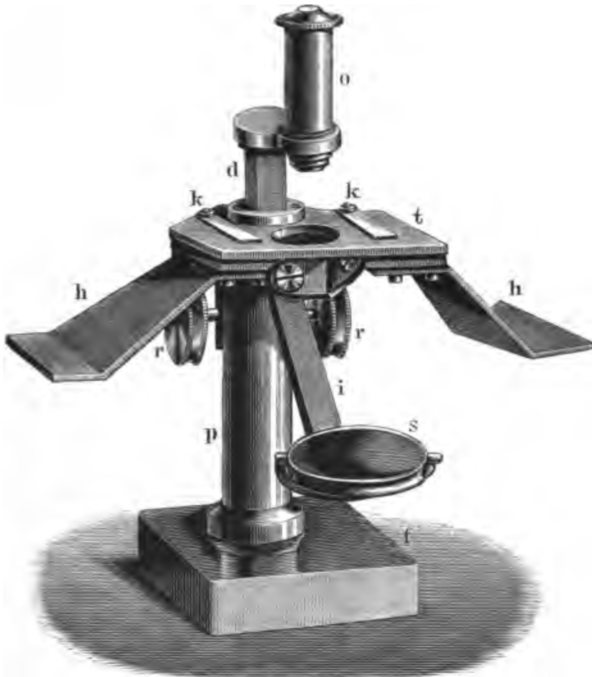



12.

Die beiden beschriebenen Formen sind sehr einfache Präparirlupen; werden an dem Gestell oder Stativ noch Vorrichtungen angebracht, um den zu präparirenden Gegenstand festzuhalten und ihn geeignet zu beleuchten, so pflegt man die Präparirlupe ein Präparirmikroskop, Simplex oder einfaches Mikroskop zu nennen.

Figur 12 stellt ein Präparirmikroskop von Seibert in Wetzlar dar, (1/3 der natürlichen Grösse). Auf einer Holzplatte *a a*, welche die Holzbacken *u u* als Stützpunkte für die Hände beim Präpariren trägt, erhebt sich die Messingsäule *p p*, an der der Beleuchtungsspiegel *s s* befestigt ist. Oben ist an der Säule der Tisch *t* fest angebracht, und in ihr ist (vermittels des Triebes *z*) die Stange *c* auf und ab beweglich, welche oben in einen Winkelarm übergeht, dem bei *b* Doublets verschiedener Stärke aufgesetzt werden können. Senkrecht unter dem Doublet liegt die Oeffnung des Tisches, auf welchen, auf einer Glasplatte liegend, das Präparat durch die mittels der Feder *f* zu hebende Klammer *d* fixirt wird. Der Preis des Instrumentes beträgt ca. 60 M.

Die Firma C. Zeiss in Jena bringt seit langer Zeit ein Präparirmikroskop in den Handel (Preis 80 M.), das in Figur 13 in halber natürlicher Grösse dargestellt ist. Die Bedeutung von *f*, *p*, *r*, *t*, *k* und *d* ist nach dem soeben Gesagten ohne weiteres verständlich; die Stützen zum Auflegen der Hände bestehen hier aus mit Leder überzogenen Metallstücken *h h*, welche an der Unterseite des Tisches *t* eingeschoben und beim Nichtgebrauch leicht wieder entfernt werden können.




13.

Der Spiegel *s* ist durch den gebrochenen Metallarm *i* auch seitlich und nach vorn beweglich, und an Stelle des Doublets befindet sich hier ein complicirterer optischer Apparat *o*, dessen Wirkung erst nach Kenntnissnahme des folgenden Capitels klar wird. Die Röhre trägt unten ein Triplet und oben eine Concavlinse. Benutzt man letztere mit allen drei oder den beiden oberen Tripletlinsen, oder mit der obersten Linse allein, so ergeben sich Vergrösserungen von 100, 60 und 40, während die Benutzung der Tripletlinsen allein 30-, 20- und 15fache Vergrösserungen liefern. Der Abstand der unteren Tripletlinse vom Objecte schwankt je nach der Vergrösserung zwischen 9 und 30 mm.

Den beiden hier vorgeführten Formen des Präparirmikroskops schliessen sich die der anderen optischen Werkstätten im Princip an; die Abweichungen sind geringe und mit Zugrundelegung der beschriebenen Constructionen leicht verständlich.

---

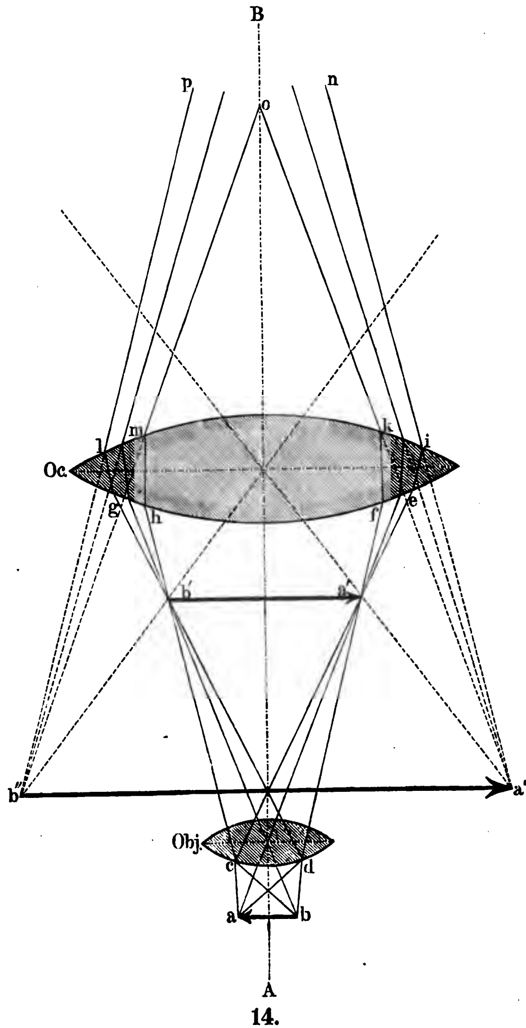
## III. Das zusammengesetzte Mikroskop.

Es wurde bereits oben (p. 8) auseinandergesetzt, wie durch die Wirkung einer von mindestens einem Kugelsegmente begrenzten Linse ein reelles Bild zu Stande kommt. Es zeigte sich ferner, dass man dieses Bild auf einem Schirme auffangen und betrachten kann. Es giebt jedoch noch einen anderen Weg, dieses Bild zu betrachten, man kann es nämlich durch eine Lupe ebenso besehen, ja auch noch vergrössern, als wenn es ein wirklicher Gegenstand wäre. Nöthig ist dabei nur, dass man fremdes Licht ausschaltet, weil dieses vielleicht viel heller ist als das erzeugte Bild und letzteres daher überstrahlen würde. Man verbindet also zweckmässig beide Linsen, die bilderzeugende und die bildbetrachtende, z. B. durch eine undurchsichtige Metallröhre. Die bilderzeugende Linse nennt man das Objectiv, die bildbetrachtende das Ocular, und durch das Zusammenfügen dieser beiden Linsen in der beschriebenen Weise würde man ein zusammengesetztes Mikroskop in der primitivsten Form vor sich haben.

Das Zustandekommen eines mikroskopischen Bildes und der Gang der Lichtstrahlen hierbei werden aus dem in der Einleitung Gesagten, aus Figur 7, 8 und der umstehenden Figur 14 sehr leicht klar werden. Die Linse *Obj* ist das Objectiv, *Oc* das Ocular, *AB* deren gemeinschaftliche optische Achse, beide sind also centrirt. Befindet sich nun in der Objectebene ein leuchtendes oder beleuchtetes Object *ab*, so sendet dieses, wie wir an Figur 8 gelernt haben, die Strahlenkegel *ac*, *ad*, *bd*, *bc* in das Objectiv, die in der *ab* conjugirten Bildebene zu dem reellen, umgekehrten Bilde $a'b'$ vereinigt werden. Dieses reelle Bild sendet von allen Punkten divergirende Lichtkegel in das Ocular *Oc*, z. B. $ea'f$, $gb'h$, und diese werden — man vergleiche hierzu Figur 7 auf p. 8 — im Ocular gebrochen (*efik*, *ghlm*), indem sie hierdurch bei ihrem Austritt in die viel weniger divergenten $na''o$, $pb''o$ verwandelt werden; d. h. es wird von $a'b'$ durch das Ocular ein vergrössertes virtuelles Bild $a''b''$ erzeugt. Ein in den Punkt *o* gebrachtes Auge sieht

also von dem Objecte $a b$ das umgekehrte vergrösserte Bild in der Ausdehnung $a'' b''$.

Die ersten Mikroskope, welche man construirte[1], besassen in der That nur zwei biconvexe Linsen, deren eine als Objectiv, die andere als Ocular wirkte. Diese Instrumente würden jedoch zu Beobachtungen, wie sie die Jetztzeit verlangt, ganz ungeeignet sein, denn, abgesehen von ihrer nur sehr schwachen Vergrösserung, zeigten sie ein sehr gewölbtes, nur in den mittleren Parthien deutliches Bild, dessen einzelne Theile ausserdem von starken Farbensäumen umgeben waren.



14.

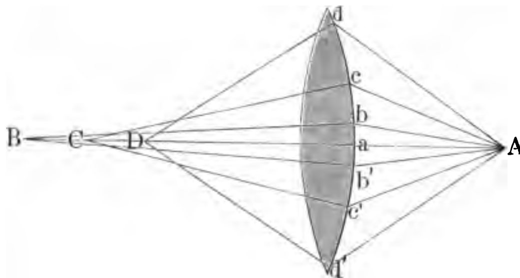
Jede Linse, die von Kugelsegmenten begrenzt wird, leidet nämlich an zwei Mängeln, durch welche das Entstehen eines guten Bildes sehr beeinträchtigt wird. Man bezeichnet diese Uebelstände als die sphärische und die chromatische Aberration der Linsen.

Die sphärische Aberration (Abweichung wegen der Kugelgestalt) besteht in Folgendem. Es sei $A B$

---

[1]) Das zusammengesetzte Mikroskop wurde zu Ende des 16. Jahrhunderts gleichzeitig in Holland und Italien erfunden.

(Figur 15) die optische Achse einer Sammellinse, $A$ ein in der Objectebene gelegener Leuchtpunkt, $Ab$ und $Ab'$ Strahlen, welche von ihm auf die Linse fallen. Dieselben werden im Bildpunkte $B$ vereinigt werden. $Ac$ und $Ac'$ ist ein Strahlenpaar von $A$, welches die Linsenoberfläche entfernter von dem Scheitelpunkte $a$ trifft. Dieses Strahlenpaar wird nicht genau im Punkte $B$ zur Vereinigung gelangen, sondern etwas vor demselben, in $C$; das noch weiter von $a$ entfernte Strahlenpaar $Ad$ und $Ad'$ hat seinen Vereinigungspunkt noch entfernter von $B$, nämlich in $D$. Also: Durch die, eine sphärische Linse unter verschiedenen Einfallswinkeln treffenden Strahlenbündel wird nicht ein einziges Bild erzeugt, sondern es entsteht eine grosse Anzahl sehr dicht hinter einander liegender Bilder, welche zusammengenommen auf das Auge den Eindruck eines einzigen Bildes mit verschwommenen Umrissen hervorbringen. Denn verlängert man $cC$ und $c'C$, ferner $dD$ und $d'D$, bis sie die durch $B$ gelegte Bildebene treffen, so ist es klar, dass sie darauf Zerstreuungsbilder von $A$ hervorbringen werden.

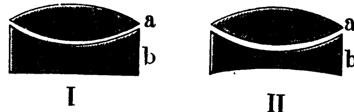


15.

Die zweite schlechte Eigenschaft der Linsen ist die **chromatische Aberration** (Farbenabweichung). Es wurde früher auseinandergesetzt, dass der Grad der Brechung von Lichtstrahlen durch Linsen und anderem abhängig ist von dem Brechungsindex der Linse (p. 7), und ferner wissen wir, dass dieser Brechungsindex für Lichtstrahlen verschiedener Farben ein verschiedener ist (p. 5). Hieraus geht hervor, dass, wenn wir weisses Sonnenlicht zur Beleuchtung eines Objectes nehmen, jede darin enthaltene Farbe ein besonderes, gefärbtes Bild des Objects erzeugen muss. Das Bild der am wenigsten brechbaren (rothen) Strahlen entsteht am weitesten vom Scheitelpunkte der Linse entfernt, das der am stärksten brechbaren (violetten) Strahlen der Linse am nächsten (vgl. p. 6). Fängt man das Bild im Vereinigungspunkte der rothen Strahlen mit einem Papierschirme auf, so erscheint es blau und violett gesäumt durch die Zerstreuungsbilder der schon vor ihm vereinigten stark brechbaren Strahlen; fängt man dagegen das Bild im Vereinigungspunkte der violetten Strahlen auf, so treffen die übrigen Strahlenkegel

dieses schon vor ihrer Vereinigung, und es erscheint roth und gelb gesäumt, im ersten wie im letzten Falle verschwommen.

Es giebt jedoch Mittel, die sphärische wie die chromatische Aberration der Linsen zum grössten Theil aufzuheben. Zur Ueberwindung der ersteren lässt man die auf den Rand der Linse fallenden Strahlen (Randstrahlen) gar nicht zur Wirkung kommen, indem man vor oder hinter die Linse eine in der Mitte kreisförmig durchlöcherte Platte, eine sogenannte Blende einschaltet. Jedoch kann man durch die Blende immer nur einen Theil der schädlichen Strahlen abschneiden, da das Bild, wollte man die Blendöffnung sehr klein machen, zu lichtschwach werden würde. Sodann kann man, indem man bei biconvexen Linsen die Krümmungshalbmesser beider Oberflächen in ein gewisses Verhältniss zu einander bringt[1], die sphärische Aberration sehr herabdrücken, beim Objectiv schliesslich auch dadurch, dass man dasselbe nicht aus einer Linse verfertigt, sondern aus deren mehreren, die durch ihren gegenseitigen Abstand ihre sphärischen Aberrationen compensiren, dass man die dem Objecte zunächst liegende Linse planconvex macht und die ebene Seite dem Objecte zukehrt[2]. Durch die Vereinigung mehrerer Linsen zu einem Objectiv erzielt man dann zugleich auch ein möglichst ebenes Bild.



16.

Die chromatische Abweichung wird auf folgende Weise überwunden. Man verwendet zur Construction der Linsen verschiedene Glassorten, welche je nach den Stoffen, aus denen sie fabricirt werden, bei annähernd demselben Brechungsvermögen ein sehr verschiedenes Farbenzerstreuungsvermögen (p. 6) besitzen. Das Zerstreuungsvermögen des Flintglases z. B. ist fast doppelt so gross als das des Crownglases, während die Brechungsindices beider Glassorten annähernd dieselben[3] sind. Wenn man nun eine biconvexe Crownglaslinse (*a* Figur 16) mit einer planconcaven (I) oder biconcaven (II) Flintglaslinse *b* verbindet, so wird dadurch allerdings die Vergrösserung von *a* beträchtlich vermindert, da ja *b* eine Zerstreuungslinse (p. 7) ist. Aber es zeigt sich da-

[1]) Es ist durch Versuche festgestellt worden, dass diejenigen biconvexen Linsen die geringste sphärische Abweichung haben, deren Krümmungsradien etwa im Verhältniss 1 : 6 stehen. Sie heissen Linsen der besten Form.

[2]) Wollte man die gekrümmte Seite der planconvexen Linse dem Object zukehren, so würde die sphärische Abweichung etwa viermal so gross sein als bei umgekehrter Stellung.

[3]) Flintglas = 1·751, Crownglas = 1·530 (nach v. d. Willigen).

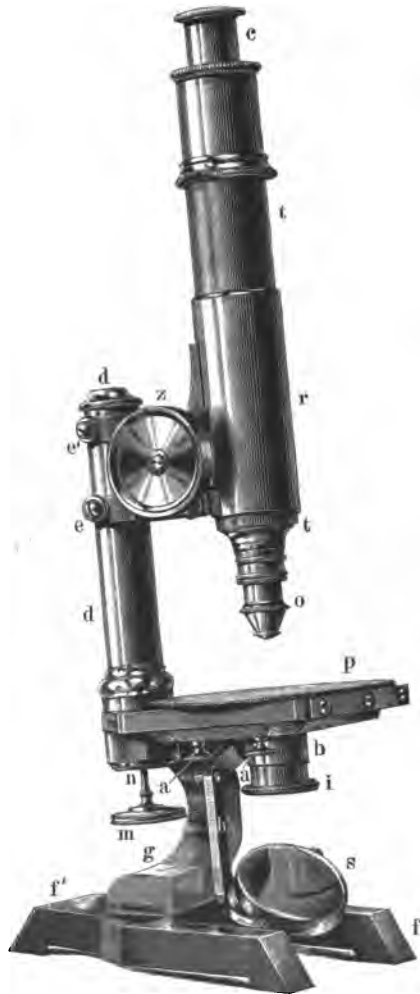
bei, dass, wenn die Flintglaslinse eine etwa doppelt so grosse Brennweite hat wie die Crownglaslinse, durch die entgegengesetzte Wirkung von *b* die Farbenzerstreuung von *a* nahezu aufgehoben wird. Es entsteht alsdann ein fast farbloses, achromatisches Bild, die Doppellinse ist eine achromatische, ein Aplanat[1]. Beide Linsen werden mit Canadabalsam fest zusammengekittet; man darf also zum Reinigen solcher Linsen Flüssigkeiten wie Alkohol, Aether, Chloroform, in denen Canadabalsam löslich ist, nur mit Vorsicht anwenden. —

Wir wollen uns nun zunächst an Figur 17, welche ein grösseres Mikroskop der Firma Seibert (Stativ 3) darstellt, mit den Benennungen der einzelnen Theile unseres Instrumentes bekannt machen. Die Röhre *tt* heisst der Tubus; oben kann in ihn das Ocular *c* geschoben werden, unten wird ihm das Objectivsystem *o* angeschraubt. Der Tubus kann in der Röhre *r* durch Drehen des Triebes *z* auf- und abbewegt werden. Bei *p* befindet sich eine feste Platte, der Objecttisch oder Tisch, er besitzt senkrecht unter *o* eine Oeffnung, die Tischöffnung. Auf den Tisch, und zwar über diese Oeffnung, wird das zu vergrössernde Object, auf einer Glasplatte (dem Objectträger, vgl. 2. Abschnitt) befindlich, gelegt. Nun wird durch den Trieb *z* der Tubus *t* soweit herabgeschraubt, bis das Object sichtbar wird, wenn man in *c* hineinsieht; das Object wird eingestellt. Um es aber ganz genau in die Objectebene zu bringen, dient eine zweite, sehr sorgfältig gearbeitete Schraubenbewegung, die Mikrometerschraube, welche die feine Einstellung bewerkstelligt. Sie ist in *m* sichtbar, tritt in die Mikroskopsäule *dd* und bewirkt durch einen eigenen Mechanismus *ee'* beim Drehen eine ganz geringe und sanfte Auf- und Abbewegung des Tubus. Um die feine Einstellung zu bewirken muss man, indem man durch das Ocular blickt, die Mikrometerschraube solange versuchsweise nach beiden Richtungen drehen, bis das Bild in möglichster Schärfe erscheint. — Unterhalb des Tisches *p*, der von dem Fuss *ff'* getragen wird, befindet sich der Beleuchtungsapparat. Er besteht aus einer kreisförmigen Spiegelfassung *s*, die auf der einen Seite einen Planspiegel, auf der anderen einen Hohlspiegel besitzt, und die durch das Hebelwerk *h* in verschiedene Stellungen gebracht werden kann. An der Unterseite des Tisches sind zwei Führungsleisten befestigt, in welche man an den Knöpfen *aa* eine rechteckige, in der Mitte kreisförmig durchlöcherte Platte, den Schlitten schieben kann. Dieser trägt, ent-

---

[1]) Durch derartige Linsenverbindungen wird zugleich, wie nebenbei bemerkt werden mag, auch die sphärische Abweichung um ein Bedeutendes herabgedrückt.

sprechend seiner Durchbohrung, die Hülse *b*, in die der Blendcylinder *i* passt. Dem Mikroskop sind mehrere kleine Metallkappen, Blenden, mit verschieden grossen, kreisförmigen Oeffnungen beigegeben, welche auf den Blendcylinder passen. Setzt man eine solche auf den Cylinder, schiebt den Schlitten unter den Tisch und schiebt nun den Blendcylinder ganz in *b* hinein, so tritt die Blende oben in die Tischöffnung und verringert die Grösse derselben — zu welchem Zwecke, werden wir später sehen. Manche Instrumente, z. B. das in Figur 17 abgebildete, besitzen in dem *f* und *d* verbindenden Stücke *g* ein Gelenk, so dass man den Mikroskopkörper in eine schräge Stellung bringen kann; sie sind zum Umlegen eingerichtet. Auf dem Tische *p* endlich bemerkt man eine runde Platte, auf die das Object zu liegen kommt. Sie ist um ihren Mittelpunkt drehbar, gestattet also, das Präparat zu drehen ohne es selbst anzufassen. Diese Einrichtung besitzen jedoch nur die grösseren Instrumente. —




17.

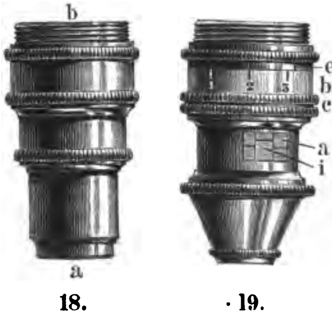
Bevor wir uns, nach dieser allgemeinen Uebersicht, zur Besprechung der einzelnen Theile des Mikroskopes wenden, wollen wir noch bemerken, dass im Laufe des letzten Jahrzehnts die Theorie der mikroskopischen Bilderzeugung zum ersten Male in jeder Weise befriedigend durch Abbe entwickelt wurde. Dem Umfange und dem Leserkreise dieses Werkes entsprechend musste von vorn herein von jeder genaueren opti-

schen Begründung der Vorgänge bei der mikroskopischen Bilderzeugung abgesehen werden. Wem aber daran liegt, ein eingehenderes Verständniss für seinen Apparat zu erlangen, dem empfehlen wir das Studium der Werke von DIPPEL [1], in denen unter Mitwirkung ABBE's die einschlägigen Dinge auseinandergesetzt sind. Sie bewegen sich völlig im Rahmen der elementaren Mathematik, nur die Kenntniss der ebenen Trigonometrie ist dazu erforderlich.

## 1. Der optische Apparat.

Der optische Apparat des Mikroskopes besteht aus dem Objectiv und dem Ocular. Wir wollen mit der Betrachtung des Objectivs beginnen.

**A. Objectivsystem.** Die modernen Objectivsysteme sind zwei-, drei- oder viergliedrig, d. h. sie sind aus 2, 3 oder 4 Linsen zusammengesetzt. Von diesen heisst die untere Linse, deren plane, dem Object zugekehrte Seite von aussen sichtbar ist, die Frontlinse. Diese Frontlinse ist nur bei den schwächsten Systemen (d. h. den Systemen für die schwächsten Vergrösserungen) achromatisch; bei den anderen ist sie nicht achromatisch (einfach). Die zweigliedrigen Systeme bestehen aus 2 achromatischen Doppellinsen, die dreigliedrigen aus 2 achromatischen Doppellinsen und einer einfachen Frontlinse, die bei den Systemen für stärkere Vergrösserungen von halbkugeliger Form genommen wird; endlich die viergliedrigen Systeme („Duplex-Front") bestehen aus einer halbkugeligen einfachen Frontlinse, einer planconvexen oder biconvexen einfachen Linse darüber, und oberhalb dieser aus 2 achromatischen Doppellinsen [2]. Die das System bildenden Linsen werden vom Optiker fest zu einem Stücke verbunden (Figur 18, System V von SEIBERT; Figur 19, System VII

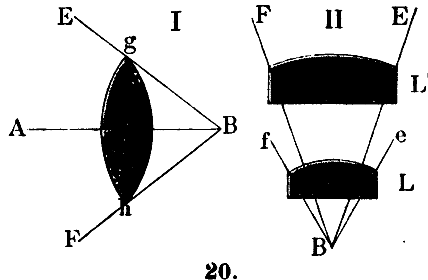


18. 19.

[1]) DIPPEL, L., Handbuch der allgemeinen Mikroskopie. Braunschweig 1882; DIPPEL, L., Grundzüge der allgemeinen Mikroskopie, Braunschweig 1885.

[2]) Die neuen, von ABBE und ZEISS construirten, sogenannten apochromatischen Objectivsysteme haben wesentlich andere Linsencombinationen (cfr. DIPPEL in Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. III, 1886, p. 311).

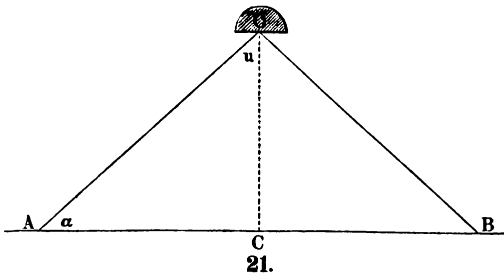
derselben Firma). Sie sollen für gewöhnlich nicht von einander geschraubt werden. Denn sie sind genau centrirt, und die Centrirung kann durch öfteres Abschrauben ungenau werden. Bei *a* (Figur 18) liegt die Frontlinse, bei *b* ist das Schraubengewinde sichtbar, vermittels welches das System an den Tubus festgeschraubt wird. An den gekerbten Rändern kann man es bei dieser Procedur bequem und sicher fassen. Da durch den häufigen Wechsel der Systeme die Schraube einer Abnutzung sehr ausgesetzt ist, so empfiehlt es sich, beim Anschrauben das System so zu drehen, als wollte man es im verkehrten Sinne anschrauben, man wird dann alsbald einen leichten Knax hören; es ist dies ein Zeichen, dass die Schraube in die Mutter gefasst hat, und man kann nun rechtssinnig drehen. Bei neueren, zumal stärkeren Systemen wird jetzt ziemlich allgemein die Frontlinse in vernickeltes Messing oder in Aluminium gefasst; man darf dann, wenn bei der Beobachtung dieser Theil schmutzig geworden ist, denselben mit Alkohol reinigen, was bei den blanken Messingtheilen nicht geschehen darf, denn diese sind mit einem Lack überzogen, welcher in Alkohol löslich ist.



20.

Die Leistungsfähigkeit eines Objectivsystems (von der später noch die Rede sein wird) ist zum grossen Theil abhängig von der Strahlen- oder Lichtmenge, die es von dem Objecte aufnimmt und in das reelle Bild überführt. Die in das System tretende Strahlenmenge wird gemessen durch die Oeffnung oder den Oeffnungswinkel des Systemes. Der Oeffnungswinkel einer Linse wird erhalten, wenn man zwei gegenüberliegende Ränder derselben mit dem Brennpunkte verbindet. Der Oeffnungswinkel der Linse *o* (Figur 20I) ist also *EBF*. Bei einem Linsensysteme ergiebt sich der Oeffnungswinkel durch Verbindung der Ränder der obersten Linse mit dem Brennpunkte. Der Oeffnungswinkel des zweigliedrigen Systems Figur 20II ist also nicht *eBf*, sondern *EBF*. Zur Bestimmung des Oeffnungswinkels sind zahlreiche, mehr oder minder complicirte Apparate construirt worden, von denen der beste das Abbe'sche Apertometer ist. Amici hat eine Methode zur annähernden Bestimmung des Oeffnungswinkels für Trockensysteme angegeben, zu der keine Apparate nöthig sind, und die für unsere Zwecke genügende Resultate giebt.

Man legt auf den Mikroskopirtisch einen Bogen blaue Pappe, auf den man eine gerade Linie von genügender Länge gezogen hat. Das Mikroskopstativ stellt man, nachdem man den Spiegel seitwärts geschoben hat, und indem man durch die Tischöffnung sieht, so auf diesen Strich, dass derselbe durch die Mitte der Tischöffnung von rechts nach links verläuft. Nun schraubt man das zu messende Objectivsystem an, stellt auf ein mit einem Kreuz gezeichnetes, auf der Tischöffnung liegendes Deckglas ein, entfernt das Deckglas und zieht das Ocular aus dem Tubus hervor. Nunmehr nimmt man einen Streifen weisses Papier, den man neben den Mikroskopfuss quer über die gezogene Linie legt. Sieht man durch den Tubus auf das Objectiv, so bemerkt man, dass er einen Theil des kleinen Gesichtsfeldes ausfüllt. Dann schiebt man den Streifen soweit von dem Mikroskope fort, bis er eben am Rande des kleinen Gesichtsfeldes verschwindet und bezeichnet seine jetzige Lage auf dem Striche durch eine Marke. An der anderen Seite des Mikroskops verfährt man ebenso. Den Abstand der beiden Marken $A$ und $B$ (Figur 21) bestimmt man mit dem Millimeterstabe. Denkt man sich beide mit dem Einstellungspunkte des Objectivs $O$ verbunden, so erhält man den Winkel $AOB$, und dieser ist der gesuchte Oeffnungswinkel. Zieht man $OC$ senkrecht auf $AB$, so entspricht diese Linie der Entfernung der Tischplatte von $AB$; sie kann gleichfalls mit dem Millimeterstabe gemessen werden. Wenn man nun das Dreieck $AOB$ auf Papier in der natürlichen Grösse zeichnet, indem man der Linie $AB$ die oben gemessene Länge in Milimetern giebt, $AB$ halbirt, in $C$ ein Loth errichtet, $CO$ so lang macht als unsere Objecttischhöhe beträgt, so kann man $OA$ und $OB$ ziehen und die Grösse des Winkels $AOB$ mit dem Transporteur bestimmen. — Durch Rechnung findet man die Grösse dieses Winkels auf folgende Weise:



21.

$$\text{tang}\ \alpha = \frac{OC}{AC}$$

$$90 - \measuredangle\ \alpha = \measuredangle\ u$$

$$\measuredangle\ 2\,u = \measuredangle\ AOB.$$

Beispiel. Der Oeffnungswinkel des Objectivs Seibert V soll bestimmt werden. $AB = 238$ mm, $OC = 78{\cdot}5$ mm.

$$\text{tang}\ \alpha = \frac{78{\cdot}5}{119}$$

$$\begin{array}{rl} \log 78{\cdot}5 = & 1{\cdot}8948697 \\ -\log 119 = & 2{\cdot}0755470 \\ \hline & 9{\cdot}8193227 = \log \text{tang}\ \alpha. \end{array}$$

$\sphericalangle\ \alpha = 33^0\ 25'$; $\sphericalangle\ u = 90^0 - 33^0\ 25' = 56^0\ 35'$; $\sphericalangle\ 2\ u = 113^0$.

Der Oeffnungswinkel des Systemes wird vom Verfertiger zu 118° angegeben, unsere Messung ist also um 5° zu klein ausgefallen.

Die unter dem Mikroskope zu betrachtenden Objecte liegen in einer Flüssigkeit (z. B. Wasser) oder in einem harzartigen Stoffe (z. B. Canadabalsam), und sie sind mit einem dünnen Glasplättchen, dem Deckglase bedeckt, wie im 2. Abschnitte ausführlich beschrieben werden wird. Die vom Object in das Objectiv wandernden Lichtstrahlen treten also zunächst in Glas, dann in Luft und erst darauf in das Objectiv. Bei dem Uebergange von Glas in Luft erleiden sie eine Brechung (vgl. p. 4), und, da die Luft das dünnere Medium ist, werden sie von ihrer Richtung nach aussen hin abgelenkt. Es wird also für das mikroskopische Bild eine Anzahl von Strahlen verloren gehen, welche dem Bilde zu Gute kämen, wenn dieser Uebertritt in Luft nicht stattfände. Schon vor längerer Zeit kam man auf den Gedanken, die Luftschicht zwischen Deckglas und Objectiv durch ein dichteres Medium zu ersetzen. Man wählte hierzu Wasser und construirte die sogenannten Tauchsysteme, Immersionssysteme oder Wasserimmersionen. Das Eigenthümliche in der Benutzung dieser Systeme besteht darin, dass man auf die Frontlinse einen kleinen Tropfen ganz reinen, destillirten Wassers bringt, es mit dem anhängenden Tropfen an den Tubus schraubt, diesen soweit senkt, bis der Tropfen das Deckglas beinahe berührt, letzteres nun ein wenig anhaucht und durch eine geringe weitere Bewegung nach abwärts den Tropfen mit dem Deckglase in Berührung bringt. Es breitet sich dann das Wasser in dünner Schicht zwischen Deckglas und Objectiv aus. Man hat also durch diese Einrichtung eine Vergrösserung des Oeffnungswinkels erreicht. Da der Brechungsindex des Glases 1·52, der des Wassers aber nur 1·33 ist (p. 4), so findet immer noch eine Ablenkung von Lichtstrahlen statt, welche man für das Mikroskop dienstbar machen könnte, wenn man statt Wasser eine Flüssigkeit von dem Brechungsindex 1·52 wählte, denn dann würde ja gar keine Ablenkung mehr stattfinden, und der Lichtstrahl würde vom Object bis zum Objectiv durch ein optisch gleichartiges (homogenes) Medium gehen. Nach einem bezüglichen Vorschlage von Stephenson haben sich denn auch Abbe mit der Berechnung, Zeiss mit der Ausführung solcher Systeme befasst und als eine der grössten Errungenschaften des modernen Mikroskopbaues Systeme geliefert, welche alle bis dahin gebräuchlichen an Leistungs-

fähigkeit weit übertreffen. Leider sind die Flüssigkeiten vom Brechungsindex 1·52 ihrer Natur nach unbequem zu verwenden, es sind gewisse flüchtige Oele, die durch Eindicken an der Luft auf den gewünschten Index gebracht werden, hauptsächlich das auf die Consistenz von Ricinusöl eingedickte Cedernholzöl. Man nennt die mit diesem Immersionsmedium gebrauchten Systeme Oelimmersionen oder homogene Immersionen.

Es ist nun klar, dass der in Luft gemessene Oeffnungswinkel bei den Immersionssystemen keinen Ausdruck für ihre Leistungsfähigkeit geben kann, dass vielmehr in einem solchen auch der Brechungsindex des zwischen Deckglas und Objectiv befindlichen Mediums mit in Rechnung gezogen werden muss. Das geschah wiederum zuerst von Abbe; den hierdurch gewonnenen Factor nennt er die numerische Apertur des Objectivsystems. Man erhält die numerische Apertur (*a*) eines Systemes durch Multiplication des Brechungsindex (*n*) des zwischen Objectiv und Deckglas befindlichen Mediums mit dem Sinus seines halben Oeffnungswinkels (*u*):

$$n \,.\, \sin u = a.$$

Es ergiebt sich z. B. für ein homogenes Immersionssystem mit einem Oeffnungswinkel von 180° die numerische Apertur 1·52, für eine Wasserimmersion von 180° = 1·33, für ein Trockensystem von 180° = 1·00. Der numerischen Apertur 1·00 entspricht bei einer Wasserimmersion ein Oeffnungswinkel von 97°, bei einer Oelimmersion ein Oeffnungswinkel von 82° [1].

Wir haben nun noch einen eigenthümlichen Einfluss des Deckglases zu betrachten, der bei Trockensystemen und bei Wasserimmersionen von grosser Bedeutung für die Güte des mikroskopischen Bildes ist. In Figur 22 soll *DD* den stark vergrösserten Durchschnitt des Deckglases darstellen, *p* einen centralen Punkt des unter ihm liegenden Präparates. Derselbe sendet die Lichtstrahlen *pa*, *pc*, *pe*, *pa'*, *pc'*, *pe'* aus, welche im Deckglase die Wege *aA*, *cC*, *eE*, *a'A'*, *c'C'*, *e'E'* verfolgen (vgl. p. 4). Bei ihrem Austritt an der Oberfläche desselben werden sie nochmals gebrochen und nehmen die Richtungen *AF*, *CG*, *EH*, *A'F'*, *C'G'*,

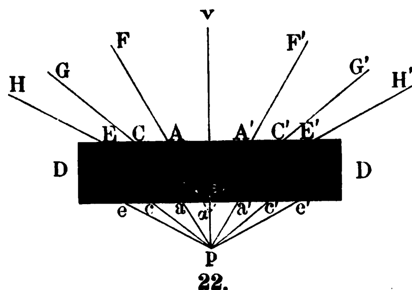
---

[1]) Wollen wir für unseren oben (p. 22) gemessenen Oeffnungswinkel von 113° die numerische Apertur suchen, so setzen wir

$$n \,.\, \sin u = a$$
$$1 \,.\, \sin 56^\circ\, 35' = a$$
$$\log \sin 56^\circ\, 35' = 9{\cdot}9215240$$
$$\text{dazu der Numerus gesucht} = 0{\cdot}83496.$$

Die numerische Apertur für diesen Winkel und Luft ist also = 0·83.

*E′ H′* an. Wenn wir nun durch Verlängerung von *FA* etc. die Vereinigungspunkte der zweimal gebrochenen Lichtstrahlen construiren, so treffen diese nicht alle in einem Punkte zusammen, sondern ihre Vereinigungspunkte liegen in der Normalen *pv* dicht übereinander ($\alpha \dots \varepsilon$). Je dünner das Deckglas ist, desto kürzer ist $\alpha\varepsilon$, je dicker das Deckglas, desto grösser. Jeder der Punkte $\alpha \dots \varepsilon$ stellt einen Objectpunkt dar, dem ein Bildpunkt im Mikroskop entspricht. Die Anwendung des Deckglases bedingt also eine ähnliche Erscheinung wie die sphärische Aberration der Linsen (p. 16). Würde man stets Deckgläser von derselben Dicke anwenden, so liesse sich der Einfluss des Deckglases durch geeignete Abstände der Linsen im Objectivsystem ausgleichen, ebenso wie dies für die sphärische Abweichung möglich ist (p. 17). Da nun aber die im Handel vorkommenden Deckgläser nicht gleich dick sind [1], so muss man bei stärkeren Trockensystemen und bei Wasserimmersionen ein Mittel besitzen, den Abstand der Linsen des Systems jeder Deckglasdicke anzupassen. Solche Systeme heissen Correctionssysteme. Bei schwächeren Trockensystemen kann man die Correctionsvorrichtung entbehren, da bei diesen der Einfluss des Deckglases unmerklich ist (sie sind auf die gebräuchlichste Deckglasdicke justirt), und bei Oelimmersionen ist eine Correction, wie sich von selbst versteht, überhaupt unnöthig.

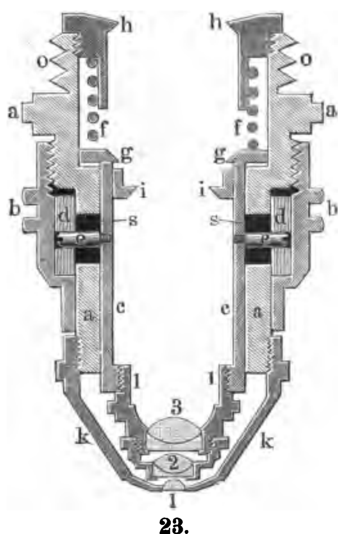


22.

Die Construction eines Correctionssystemes wird durch Figur 23 veranschaulicht, welche System 9 von Winkel in doppelter natürlicher

[1]) Man hat verschiedene Apparate, sogenannte Deckglastaster, um die Dicke der Deckgläser bestimmen zu können. Zeiss bringt neuerlich einen sehr schönen derartigen Apparat in den Handel, bei dem das zu messende Deckglas zwischen zwei hervorstehende Zinken gesteckt wird, worauf ein Zeiger auf die entsprechende Dicke zeigt. Hat man ein Deckglas, dessen Dicke bestimmt ist, so kann man aus einer Parthie gleich grosser Deckgläser leicht die Exemplare von ähnlicher Dicke heraussuchen, wenn man das gemessene Deckglas gleichzeitig mit einem ungemessenen flach auf einen Holztisch wirft. Die Exemplare von gleicher Dicke wie das gemessene geben beim Aufwerfen auch einen gleichen Klang wie jenes. Die dickeren oder dünneren Exemplare klingen ganz anders, die ersteren haben einen tieferen, die letzteren einen höheren Klang.

Grösse im Längsdurchschnitt darstellt. Dasselbe besteht aus dem soliden Messingstück *aaaa*, welches bei *oo* das Schraubengewinde trägt, vermittels dessen es an den Tubus geschraubt wird. Am unteren Ende besitzt es gleichfalls eine Metallkappe *kk*, in welche die Frontlinse *1* gefasst ist, die also durch *kao* unverschiebbar am Tubus befestigt wird[1]. Die beiden oberen achromatischen Linsen *2*, *3* sind durch ihre Fassung *l* mit einem Cylinderchen *cc* verbunden, das in *aa* auf- und abgleiten kann. Auf dem oberen Rande von *c* ruht ein platter Metallring *gg*, auf diesen drückt die Spiralfeder *ff*, die durch die Hülse *hh*, welche an *aa* festgeschraubt ist, fixirt wird. — Der Cylinder *aa* hat rechts und links je einen etwa 4 mm langen, 1·5 mm breiten Schlitz *ss*, über ihn gleitet der Metallring *dd*, welcher durch zwei Schraubenstifte *ee* mit dem inneren Cylinder *cc* fest verbunden ist. Ein weiteres Messingstück *bb* umfasst den eben erwähnten Ring *dd* an seinem unteren Rande in der in der Abbildung sichtbaren Weise; ausserdem ist es oben vermittels eines Schraubengewindes drehbar an *aa* befestigt. Wenn man nun dieses Stück, indem man den gekerbten Doppelrand bei *b* fasst, nach aufwärts dreht, so hebt es den Metallring *d*, dieser die Stifte *ee*, diese heben den Cylinder *cc*, und also bewegen sich die Linsen *2*, *3* von *1* fort, der Abstand zwischen *2* und *1* wird grösser. Dreht man dahingegen bei *bb* nach abwärts, so folgen auch *d*, *e*, *c*, *g* dieser Bewegung, da die Spiralfeder *ff* auf *g* einen Druck ausübt, die Linsen *2*, *3* werden also in diesem Falle der Frontlinse genähert. — Der Vollständigkeit wegen mag noch erwähnt werden, dass *ii* eine Blende ist.



23.

Um den jeweiligen Stand der Linsen zu einander controlliren und die Grösse der Correction in jedem Falle angeben zu können, ist auf dem Correctionssystem äusserlich ein Index angebracht (Figur 19 auf p. 20). Der Ring *b* (entsprechend *b* in Figur 23) wird in 10 Theile

[1]) Bei den viergliedrigen Correctionssystemen sind die beiden unteren Linsen fest, die beiden oberen gegen sie beweglich.

eingetheilt, das dem Tubus angeschraubte Objectivstück erhält die Marke *e*, und der äussere Objectivmantel bekommt ein Fensterchen, so dass der innere, bewegliche Cylinder bei *i* sichtbar wird. An beiden wird eine correspondirende Horizontalmarke angebracht. Stehen die Horizontalmarken in derselben Höhe, so nehmen die Linsen eine gewisse mittlere Stellung ein, nämlich die Stellung für die gebräuchlichste Deckglasdicke. Andere Optiker geben dem Ringe *b* Theilstriche, welche den dabei verzeichneten Deckglasdicken selbst entsprechen, so dass man bei dieser Einrichtung und bekannter Dicke des Deckglases nur die Marke *e* mit diesem Werthe zusammenfallen zu lassen braucht, um dann sogleich das beste Bild zu erhalten. Wo die Deckglasdicke aber nicht bekannt ist, da muss durch Probiren die beste Stellung gefunden werden. Das ist keine ganz leichte Sache, die man auch erst dann lernt, wenn man in der Beurtheilung mikroskopischer Bilder eine gewisse Uebung erlangt hat.

Die Bezeichnung der verschieden starken, von einer Firma gelieferten Objectivsysteme hängt von dem Gutdünken der letzteren ab. Manche bezeichnen sie durch I, II, III etc., andere durch A, B, C oder auf eine andere Weise. Viel besser würde es sein, wenn man sich hier auf eine einheitliche Bezeichnungsweise einigen wollte. Wenn man z. B. die Brennweite des Systemes zur Bezeichnung wählte, dann liessen sich die Systeme verschiedener Firmen viel leichter mit einander vergleichen. Bei den Oelimmersionen hat man in der That die Bezeichnung nach der Brennweite allgemein eingeführt, aber eigenthümlicher Weise dieselbe in Bruchtheilen des englischen Zolles ausgedrückt. Wenn man also von einer Oelimmersion $^1/_{12}$ spricht, so soll das heissen, eine Oelimmersion von der Brennweite $^1/_{12}$ engl. Zoll $= 2{\cdot}1$ mm.

**B. Ocular.** Das Ocular (Figur 24) besteht aus einem genau in den Tubus passenden Metallrohr, welches bis an den Rand *c* in denselben hinabgeschoben werden muss (vgl. p. 18). Sowohl oben wie unten ist in demselben ein planconvexes, unachromatisches Glas angeschraubt, und im Innern befindet sich eine Blende. Figur 25 zeigt einen Längsdurchschnitt durch ein Ocular in natürlicher Grösse; *ee* ist das Ocularrohr, *ff* seine Blende, *a* das obere, eigentliche Ocularglas oder Augenglas mit seiner Fassung *cc*, *b* das untere, sogenannte Collectivglas in der Fassung *dd*. Die Entfernung beider Gläser von einander beträgt die halbe Summe ihrer Brennweiten. Nach unseren Auseinandersetzungen auf p. 14 und nach dem in Figur 14 verdeutlichten Strahlengange im zusammengesetzten Mikroskop hätte man er-

warten sollen, dass das Ocular lediglich aus dem Augenglase bestände[1]; wir müssen daher zunächst erklären, welcher Einfluss von dem Collectiv *b* auf das mikroskopische Bild ausgeübt wird. Schraubt man das Col-

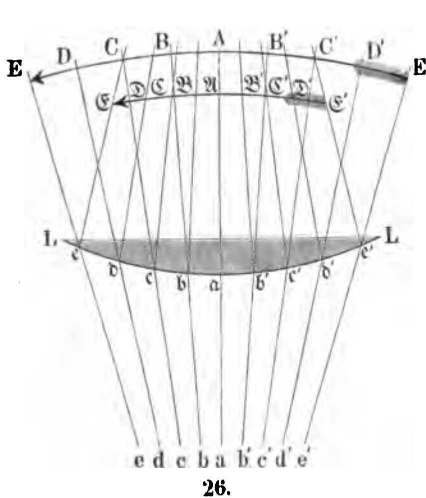



24.




25.

lectivglas ab und braucht das Mikroskop ohne dieses, so bemerkt man, dass das Bild zwar auch sichtbar ist, aber nicht so deutlich und auch nicht so eben als mit eingeschaltetem Collectiv.




26.

Angenommen, dass *b B*, *c C*, *d D*, *e E*; *b′ B′*, *c′ C′*, *d′ D′*, *e′ E′* (Figur 26) die durch das Objectivsystem gebrochenen, in *B*, *C*, *D*, *E*; *B′*, *C′*, *D′*, *E′* wieder zur Vereinigung kommenden Strahlenkegel seien, so würden diese also in *E E′* das reelle Bild erzeugen. Wird nun unterhalb des Vereinigungspunktes dieser Lichtkegel die Collectivlinse *L L* eingeschaltet, so werden dadurch jenen Lichtkegeln die respectiven Richtungen 𝔟𝔅, 𝔠ℭ, 𝔡𝔇, 𝔢𝔈; 𝔟′𝔅′, 𝔠′ℭ′, 𝔡′𝔇′, 𝔢′𝔈′ ertheilt, d. h. das reelle Bild *E E′* wird in das kleinere reelle Bild 𝔈𝔈′ verwandelt, und dieses hat hierbei nicht unwesentlich

[1]) Bei allen Ocularen ist die gekrümmte Linsenseite von *a* nach unten gewandt. Wird die Linse abgeschraubt und das Bild durch dieselbe in umgekehrter Stellung betrachtet, so erscheint es viel undeutlicher und gewölbter.

an Güte gewonnen. Es ist von geringerer Ausdehnung, kann daher mit dem Ocularglase *a* besser überblickt werden; es findet sich in dem Collectivbilde dieselbe Lichtmenge wie in $EE'$, es ist also lichtstärker geworden; die Verzerrung und der Unterschied der Vergrösserung von Rand- und Mittelparthien ist verringert; es ist ebener geworden; endlich hat eine weitere Verbesserung in der sphärischen und chromatischen Aberration stattgefunden.

Dieses wesentlich verbesserte, bei *f* (Figur 25) liegende, reelle Bild wird nun also durch *a* in ein virtuelles, vergrössertes Bild verwandelt. Je nachdem *a* einen geringeren oder grösseren Krümmungshalbmesser hat, wird diese Vergrösserung stärker oder schwächer ausfallen, man kann also durch verschieden starke Oculargläser verschiedene Vergrösserungen des durch dasselbe Objectivsystem erzeugten Bildes hervorbringen. Da aber, wie wir oben sahen, *a* und *b* einen bestimmten, von dem Krümmungshalbmesser von *a* mit abhängigen, gegenseitigen Abstand haben, so muss zu jedem Augenglase *a* ein ganzes Ocular construirt werden. Aus dem Vorhergehenden geht auch ohne weiteres hervor, dass das einem Mikroskop beigegebene längste Ocular am schwächsten, das kürzeste am stärksten vergrössert.

Ausser dieser, unter dem Namen Huygens'sches Ocular allgemein gebräuchlichen Form, giebt es noch einige andere Ocularconstructionen, die hier und da in Anwendung sind. Wenn die Collectivlinse biconvex und achromatisch ist (auch das Augenglas ist dann gewöhnlich achromatisch), so heisst das Ocular orthoskopisch oder perioskopisch, und giebt vor allem neben Reinheit des Bildes ein etwas grösseres Gesichtsfeld. In neuester Zeit sind von Abbe und Zeiss sogenannte Compensationsoculare construirt worden, vermittels welcher in eigenthümlicher Weise eine Correction des Objectivbildes bewerkstelligt wird. Da diese jedoch nur mit den noch selten verwandten Apochromaten gebraucht werden, wollen wir dieselben hier nicht näher betrachten [1].

Für die Benutzung verschiedener Oculare mit verschiedenen Objectivsystemen ist es sehr wünschenswerth, in vielen Fällen nothwendig, die Länge des Tubus (*tt* Figur 17 auf p. 19) verändern zu können. Man verfertigt ihn daher aus zwei in einander verschiebbaren Stücken (zum Ausziehen, extrahirbar), und dieses ausziehbare Verlängerungsstück des Tubus (Figur 28 auf p. 32, wo der Tubus extrahirt ist) ist also eigentlich ein Zubehör des Oculars.

---

[1]) Cfr. Dippel, L., Die apochromatischen Objective und Compensationsoculare von Carl Zeiss (Zeitschr. f. wissensch. Mikrosk. Bd. III, 1886, p. 303).

## 2. Das Stativ.

Das Mikroskopstativ, welches wir bereits auf p. 18 im allgemeinen kennen gelernt haben, ist je nach den Arbeiten, die man mit dem Instrumente vornehmen will, verschieden eingerichtet. Am vollkommensten pflegt man die Stative grössten Formates auszustatten, sie sind natürlich sehr theuer. Minder grosse und die kleineren Stative, sogenannte Arbeitsstative sind einfacher gebaut und billiger; sie besitzen wegen ihrer Einfachheit den nicht zu unterschätzenden Vortheil, dass man schneller mit ihnen arbeitet. Die ganz kleinen Stative kommen für uns nicht in Betracht; sie können zwar für einen Liebhaber, der das Mikroskop zur Unterhaltung benutzt, recht brauchbar sein, nicht aber für wissenschaftliche Arbeiten. — Wir beabsichtigen nicht, hier alle die verschiedenen Constructionsformen der einzelnen Werkstätten vorzuführen; man kann diese aus den illustrirten Preisverzeichnissen oder aus den p. 20 citirten Werken Dippel's kennen lernen. Wir wollen hier vielmehr nur ein grosses und ein mittleres Stativ beschreiben und wählen dazu das neue Stativ IIa von Zeiss und das Stativ Va von Winkel.

Das neue Stativ IIa von Zeiss (Figur 27) ruht, wie alle neueren Stative deutscher Fabrication, auf einem Hufeisenfuss. Es ist auf der, sich auf diesem Fusse senkrecht erhebenden Säule umlegbar, wie die Figur zeigt, und in jeder Stellung durch eine Klemmvorrichtung, deren Handhabe neben der Verticalsäule sichtbar ist, zu fixiren. Auf der Tischplatte ist eine dicke, um ihre Achse drehbare Hartgummischeibe angebracht, die durch zwei Schrauben, von denen eine seitlich vorn an der Hartgummischeibe bemerkbar ist, centrirt werden kann. Unterhalb des Tisches ist ein Abbe'scher Beleuchtungsapparat (s. u.) angebracht. Der Tubus ist ausziehbar, sein Auszug mit Millimetertheilung versehen, damit man die für verschiedene Systemarten nöthige Tubuslänge leicht herstellen kann. Er ist durch Zahn und Trieb in seiner Hülse beweglich; die Mikrometerschraube befindet sich am oberen Ende der den Tubus tragenden Säule; ihr Kopf ist mit einer Theilung versehen, wodurch es unter anderem möglich wird, die Dicke mikroskopischer Präparate zu bestimmen.

Viel einfacher und kleiner, dabei aber auch viel billiger ist das in Figur 28 abgebildete Stativ Va von Winkel. Es ist nicht zum Umlegen eingerichtet, die senkrechte, sich auf dem Hufeisenfuss erhebende Säule daher solide. Der Tisch ist viereckig, unbeweglich, unter ihm wie vorhin ein Abbe'scher Beleuchtungsapparat angebracht. Der extra-



27.

hirbare Tubus wird in seiner Hülse vermittels der Hand auf- und abgeschoben; die Mikrometerschraube hat eine ähnliche Stellung wie oben. Rechts neben dem Mikroskop liegt der Schlitten mit seiner einfachen Cylinderblende; er kann nach Entfernung des Beleuchtungsapparates an dessen Stelle unter den Tisch geschoben werden [1].



28.

Im Anschluss hieran wollen wir noch einige abweichende Mikroskopformen beschreiben, die für gewisse Untersuchungen bisweilen mit Erfolg gebraucht werden können.

Eine solche abweichende Form hat zunächst das umgekehrte Mikroskop (von seinem Erfinder NACHET in Paris „microscope renversé“ genannt). Es dient dazu, um mikroskopisch chemische Reactionen anzustellen, um lebende, in platten Gefässen befindliche mikroskopische Wesen zu untersuchen etc. Bei

[1]) Mittlere Arbeitsstative, wie sie beispielsweise von Studirenden gebraucht werden, liefern alle Verfertiger von Mikroskopen. Speciell für unsere Zwecke ist es wünschenswerth, wenn ein solches Stativ so eingerichtet ist, dass man einen kleinen ABBE'schen Beleuchtungsapparat an demselben anbringen kann,

demselben (Figur 29) findet sich der Spiegel und der Blendapparat über dem in der Abbildung runden Tische, das Objectivsystem aber unter demselben. Es ist einem keilförmigen Metallkasten aufgeschraubt, auf dem auch, schräg nach oben gerichtet, der Tubus mit dem Ocular befestigt ist. In dem Kasten befindet sich ein eigenthümlich gestaltetes,



29.

viereckiges Glasprisma, welches die aus dem Objectivsystem austretenden Lichtstrahlen zwiefach reflectirt, so dass sie nach diesen Reflexionen dieselbe Richtung wie der aufgeschraubte Tubus haben. — Das abgebildete Instrument ist von der Firma Bausch and Lomb in London gefertigt.

---

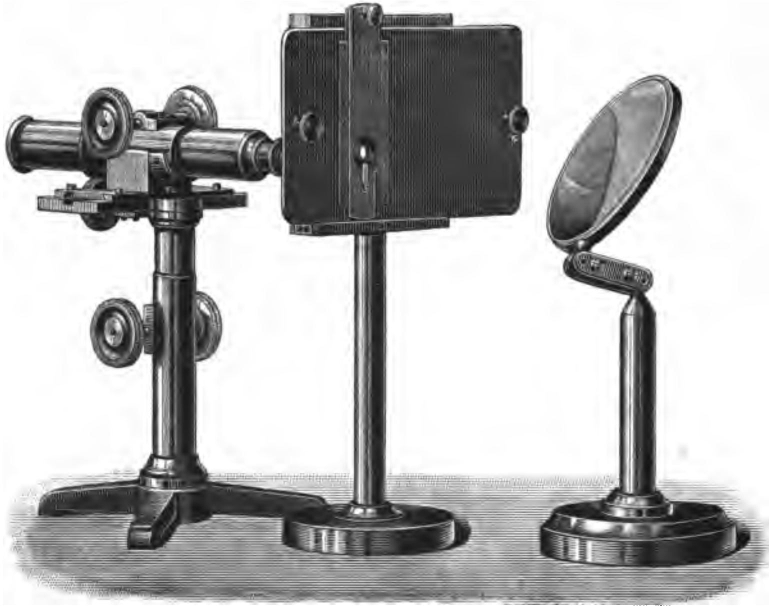
da dieser zu bacteriologischen Untersuchungen unentbehrlich ist. In wieweit man sogleich ein anzuschaffendes Instrument completiren will, hängt natürlich von den Mitteln ab, die man darauf verwenden kann. Im ganzen dürfte die Summe von 250 Mark genügen, um ein für die meisten Beobachtungen völlig taugliches Instrument zu erhalten. Wir könnten z. B. empfehlen:

1. Hartnack. Stativ VIII mit Objectiv 4, 7, 8 und Ocular 2, 3, 4: Preis 220 M.

2. Seibert. Stativ 5 mit Objectiv III, Va, VIIb und Oculur 0, I, III: Preis 234 M.

3. Winkel. Stativ Va mit Objectiv 3, 5, 8 und Ocular 1, 3, 5: Preis 213 M. (Kommt dazu noch der kleine Abbe'sche Beleuchtungsapparat Figur 28 auf p. 32, so stellt sich der Preis auf 261 M.)

Noch abweichender ist das sogenannte Aquariummikroskop gebaut, welches dazu dient, frei im Wasser schwimmende, kleine Organismen zu beobachten. In Figur 30 ist ein von Fr. Eilh. Schulze angegebenes, von Klönne und Müller in Berlin ausgeführtes Instrument abgebildet. Es trägt auf drei Füssen gesondert das Mikroskop, das Aquarium und den Spiegel. Der Tubus liegt hier horizontal, er



30.

kann in drei Richtungen bewegt werden: durch einen an der senkrechten Säule befindlichen Trieb auf- und abwärts, durch eine vermittels Schraube in Bewegung zu setzende Schlittenvorrichtung seitlich, durch einen zweiten Trieb in seiner Hülse vor- und rückwärts. Das Aquarium ist eine schmale Glascuvette mit planparallelen Seiten, in die das Wasser mit den Beobachtungsobjecten gefüllt wird. Hinter der Cuvette befindet

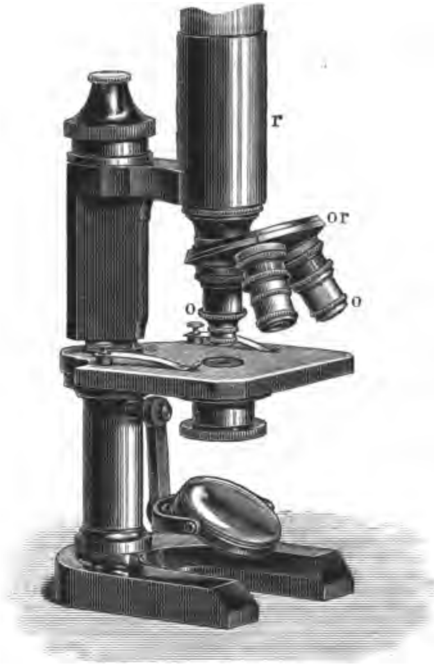
---

4. Zeiss. Stativ Vb mit Objectiv A, C, F und Ocular 1, 3, 5: Preis 240 M.

Später müsste man dann wohl noch eine schwächere Oelimmersion (100 bis 150 M.) anschaffen, und anzurathen ist auch die Anschaffung einer Camera lucida und eines Mikrometers. — Die billigen, sogenannten „Bacterienmikroskope“, wie sie von Schieck u. A. geliefert werden, können wir nicht empfehlen.

sich eine geschwärzte Metallplatte mit einer in der Abbildung sichtbaren, durch Schlittenvorrichtung und Blende zu verändernden Durchbohrung. Die Einrichtung des Spiegels ist aus der Abbildung ersichtlich. Zur Beobachtung giebt man dem Spiegel eine solche Stellung, dass er die Durchbohrung der Metallplatte beleuchtet und bringt das Objectivsystem auf der anderen Seite durch die dreifache Tubusbewegung in die richtige Stellung vor dieselbe.

Von den einzelnen Theilen des Stativs haben wir den Tubus bereits bei Besprechung des optischen Apparates mehrfach erwähnt; es erübrigt hier noch, eine Einrichtung vorzuführen, die an ihm angebracht werden kann, und die ein schnelles Wechseln der Objectivsysteme ohne Ab- und Anschrauben ermöglicht. Die älteste derartige Vorrichtung ist der Revolver-Objectivwechsler (Figur 31). Er besteht aus zwei Metallstücken *or*, die je ein Segment einer Hohlkugel darstellen, und die in der Mitte durch einen Schraubenstift so mit einander verbunden sind, dass sie sich, genau in einander passend, um diesen Stift als Centrum rotirend verschieben lassen. Die obere Revolver-Platte besitzt eine Oeffnung mit einem Schraubengewinde, mit dem sie dem Tubus *r* angeschraubt wird, die andere hat drei Oeffnungen mit Schraubengewinden, denen die Objectivsysteme *oo* anzuschrauben sind. Dreht man nun die untere Revolver-Platte so weit, bis eine ihrer Oeffnungen genau mit der Oeffnung der oberen Platte zusammenfällt (was durch eine Einschnapp-Vorrichtung angezeigt wird), so kann man das jetzt unter dieser Oeffnung befindliche System zur Beobachtung benutzen. Zur Benutzung der anderen Systeme bedarf es einer weiteren Drehung, bis diese unter der Oeffnung der oberen Platte sich befinden.



31.

Einen Schlitten-Objectivwechsler hat in neuerer Zeit Zeiss construirt, welcher eine genaue Centrirvorrichtung für die Objectivsysteme besitzt (Figur 32). Er besteht aus zwei Stücken, dem Tubusschlittenstück (Figur 32 oben), welches an den Tubus geschraubt wird, und mehreren Objectivschlittenstücken (Figur 32 unten), an welche je ein Objectiv angeschraubt wird. Das Tubusschlittenstück hat eine schräg nach oben gerichtete Schlittenführung, das Objectivschlittenstück einen in diese passenden Schlitten. Letzterem kann durch die rechts seitlich und vorn sichtbaren, viereckigen Stifte, die sich in Schrauben verlängern, vermittels eines Uhrschlüssels eine solche Stellung in der Schlittenführung des Tubusstückes gegeben werden, dass das eingeschobene Objectivsystem ein- für allemal genau centrirt ist. Zu jedem System ist natürlich ein Objectivschlitten erforderlich.



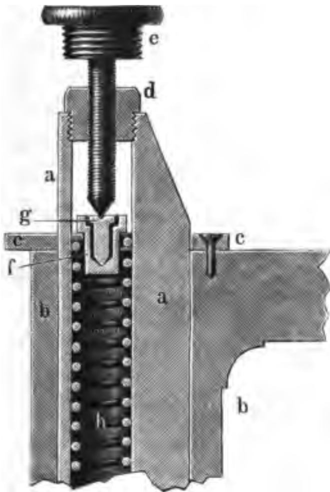


32.

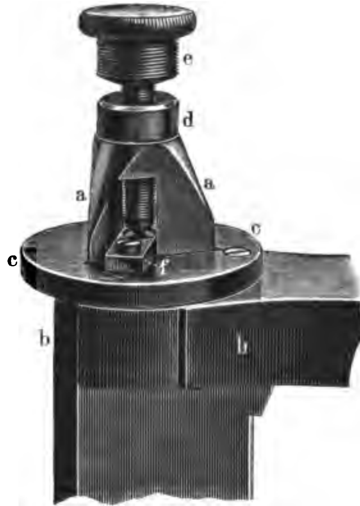
Ein wichtiger Theil des Stativs ist die Mikrometerschraube, welche man bisweilen unterhalb der Säule (*m* Figur 17 auf p. 19), häufiger oberhalb dieser (Figur 27, 28) anbringt. Die Einrichtung derselben ist bei den einzelnen Firmen verschieden; wir wollen hier die zuerst von Winkel eingeführte Constructionsart beschreiben.

Mit dem Mikroskoptische fest verbunden ist die dreiseitig-prismatische Säule *aa* (Figur 33, 34), welche sich oben etwas kegelförmig verjüngt und einen ca. 15 mm langen, 7 mm breiten Ausschnitt zeigt. Diese Säule *a* ist im Innern hohl und mit einer starken Spiralfeder *h* versehen. Oben bei *d* ist ihr die Mikrometerschraubenmutter, aus Rothguss bestehend, aufgeschraubt, durch welche die ca. 23 mm lange, unten mit conischer Spitze versehene Mikrometerschraube *e* tritt. Ueber die dreiseitig prismatische Säule *a* gleitet, genau passend, die starkwandige, dreiseitig-prismatische Hülse *b*, welche am Horizontalarme den Tubus trägt. Auf ihr oberes, horizontales Ende ist die Messingplatte *c* festgeschraubt und auf dieser der Eisensteg *f*. Dieser Eisensteg trägt in der Mitte einen kleinen, unten geschlossenen, hohlen Eisencylinder, in welchem sich der locker in ihn passende Metallstift *g* be-

findet, der unten mit flach-conischer Spitze auf *f* drückt. Der Metallstift *g* ist so angebracht, dass die Mikrometerschraube mit ihrem Endconus in eine kleine Vertiefung seiner oberen Endfläche fasst, wie in Figur 33 zu sehen ist. Unten drückt gegen den Steg *f* die Spiralfeder *h*.




33.




34.

Diese wird also vermöge ihrer Federkraft *f* und mit ihm *c* und *b* gegen die Mikrometerschraube *e* drücken. Schraubt man aber *e* nach abwärts, so wirkt man der Federkraft entgegen, und auch *f*, *c*, *b* werden sich nach abwärts bewegen. Durch die Einschaltung des beweglichen Stiftes *g*, der eigentlich nur eine Verlängerung der Mikrometerschraube darstellt, ist diese gleichsam mit einem Kugelgelenk versehen, und diese Einrichtung gewährt, ausser einem sehr sanften Schraubengange, die Garantie, dass beim Gebrauch derselben das mikroskopische Bild völlig unverrückt bleibt, da der Tubus nicht die geringsten Schwankungen vollführt. Auf das Schraubengewinde beim Buchstaben *e* wird eine glockenförmige Metallkappe geschraubt (Figur 28 auf p. 32), welche einestheils die ganze Vorrichtung vor Staub schützt, anderseits durch ihren unteren, breiten Kerbrand eine bequeme Bewegung der Mikrometerschraube ermöglicht.

Zwei weitere Theile des Stativs, die Beleuchtungsvorrichtungen und der Tisch sind so wichtig, dass wir sie in besonderen Capiteln abhandeln wollen.

## 3. Beleuchtungsvorrichtungen.

Die unter dem Mikroskop zu beobachtenden Objecte sind nicht selbstleuchtend, sie müssen daher, um gesehen zu werden, beleuchtet werden. Es geschieht dies mit einem unter dem Mikroskoptische befindlichen Spiegel (s. Figur 17 auf p. 19; Figur 27, 28, 31). Durch denselben wird gewöhnlich das von einer weissen Wolke reflectirte, diffuse Tageslicht auf das über der Tischöffnung liegende Präparat geleitet. Um gewisse feinere Structuren der Präparate deutlich zu machen, ist es angezeigt, das vom Spiegel reflectirte Licht bald gerade von unten, bald mehr oder weniger von der Seite auf das Präparat wirken zu lassen. Die erste Beleuchtungsweise nennt man central, die letzte seitlich oder schief. Zu dem Zwecke muss man dem Spiegel verschiedene Stellungen geben können, und das wird bewerkstelligt durch ein Hebelwerk (*h* Figur 17), mit dem der Spiegel am Stativ befestigt ist. Es gestattet, ihn nach oben und unten, rechts und links, häufig auch nach vorn und hinten zu verstellen. Der oder vielmehr die Spiegel, denn jedes bessere Mikroskop hat deren zwei, einen Planspiegel und einen parabolischen, befinden sich in einer runden Fassung; sie können gegen einander durch einfache Drehung ausgewechselt werden. Die Beleuchtungsart beider Spiegel ist keineswegs dieselbe. Das Tageslicht besteht aus parallelen Strahlen. Werden diese von einem Planspiegel reflectirt, so werden sie zwar von ihrem Wege abgelenkt, aber auch nach der Reflexion bleiben sie parallel (p. 3). Treffen dagegen parallele Lichtstrahlen auf einen parabolischen Spiegel, so werden sie nach der Reflexion alle in einem Punkte vereinigt, concentrirt (p. 3). Bringt man den Spiegel so an, dass dieser Vereinigspunkt mit dem Objecte zusammenfällt, so wird letzteres das gesammte, von dem Spiegel aufgenommene Licht empfangen, also viel stärker beleuchtet werden als mit dem Planspiegel. Im allgemeinen lässt sich sagen, dass ein schwach vergrössertes Object weniger stark, ein stark vergrössertes stärker beleuchtet sein muss. Man wird also den Planspiegel bei schwachen, den Hohlspiegel bei mittleren und starken Vergrösserungen zu verwenden haben.

Es ist jedoch häufig sehr nützlich, nicht die ganze, vom Spiegel gelieferte Lichtmenge zur Wirkung kommen zu lassen, sondern die Randstrahlen mehr oder minder weit abzuschneiden. Das geschieht durch entsprechende Verkleinerung der Tischöffnung, durch den an der Unterseite des Tisches angebrachten Blendapparat. Die Tischplatte hat unten

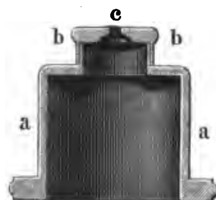
eine sogenannte Schwalbenschwanzführung; in dieselbe lässt sich ein Schlitten *ee* (Figur 35; vgl. auch p. 18) an den Handhaben *d* einschieben, der eine der Tischöffnung entsprechende, unten mit der Hülse *f* versehene Oeffnung trägt. In die Hülse passt der Blendcylinder *aa* (Figur 36). Er ist oben verjüngt, man kann ihm hier Blenden (*bb*) mit verschieden grossen Oeffnungen (*c*) aufsetzen. Wird *aa* zuerst halb in die Hülse *f* eingesteckt, dann der Schlitten bis zum Anschlagen an einen Stift vorgeschoben, und wird dann *aa* ganz in die Höhe gehoben, so befindet sich *bb* genau in Höhe der Tischöffnung und verkleinert diese auf *c*. Mit einem Blendcylinder wie der in Figur 36 I abgebildete lässt sich nun nicht nur durch Auswechseln von Blenden verschiedener Weiten die Beleuchtung des Objects regeln, sondern auch dadurch, dass man den Blendcylinder und mit ihm die Blende von dem Objecte durch Herabziehen mehr oder minder entfernt. Ob und in welchem Maasse dieses zu geschehen hat, dafür lassen sich allgemeine Regeln nicht geben. Lediglich dem Ausprobiren ist es anheimzugeben, im einzelnen Falle die richtige Beleuchtungsart zu finden.



35.



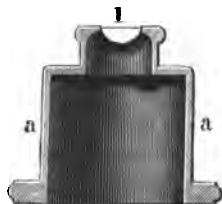
I



II

36.

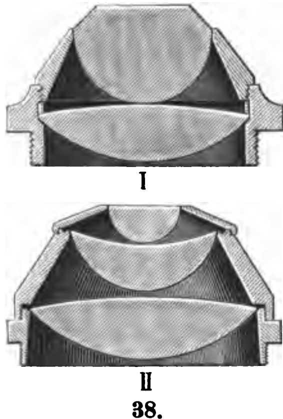
Spiegel und Blende waren, wenigstens in Deutschland, lange Zeit der gesammte Beleuchtungsapparat selbst grösserer Stative; höchstens gab man ihnen noch einen sogenannten Condensor bei. Dieser besteht aus einer an Stelle der Blende befindlichen, planconvexen, fast halbkugeligen Linse (*l* Figur 37). Die Wirkung einer solchen Linse ist nach dem auf p. 6 Gesagten klar; der auf sie vom Hohlspiegel treffende Lichtkegel wird in einen solchen stärkerer Convergenz verwandelt. Man kann also durch den Condensor die Lichtstrahlen auf das im Brennpunkte befindlichen Object sammeln, was für starke, lichtschwache Objectivsysteme



37.

von Bedeutung ist. Durch den Condensor kann man aber auch den zur Verwendung kommenden Lichtkegel in einen divergenten verwandeln, indem man seinen Brennpunkt durch Herabziehen unter das Object verlegt.

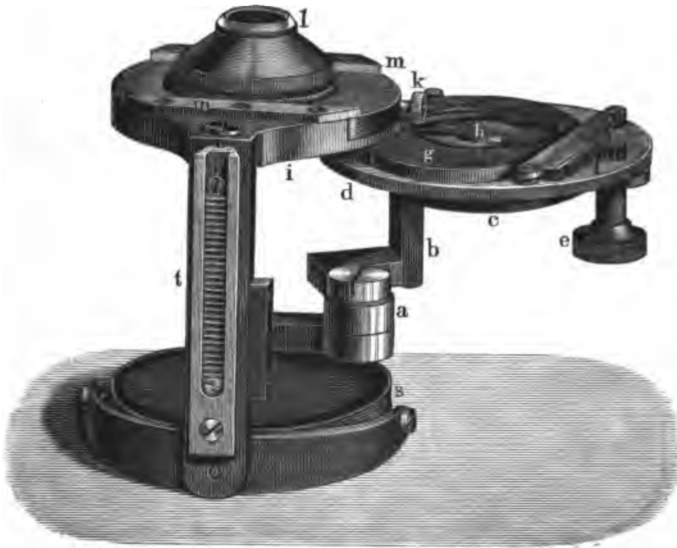
Auch hier war es wieder der durch seine für die Fortschritte im Mikroskopbau so epochemachende Arbeiten bekannte Abbe, welcher den einfachen Condensor so verbesserte, dass er jetzt erst ein unentbehrliches Requisit für das Mikroskop wurde. Es entstand der Abbe'sche Beleuchtungsapparat, der zuerst von Zeiss ausgeführt wurde, und der keinem besseren Stativ von heute fehlen sollte. Er gestattet, Lichtkegel von sehr grosser Oeffnung zur Beleuchtung zu verwenden, den Focus derselben beliebig über, in oder unter das Object zu verlegen, diese Lichtkegel ganz oder durch Blenden nur theilweise zur Geltung kommen zu lassen, endlich den Lichtkegeln in bequemer Weise verschiedene Einfallsrichtungen zu geben. Der Condensor besteht hier nicht mehr aus einer Linse, sondern aus einem Beleuchtungssystem. Die Zeiss'schen Apparate haben deren zwei (Figur 38, nat. Gr.); das eine (I) hat zwei unachromatische Linsen und eine numerische Apertur von 1·20 (vgl. p. 24), das andere (II) deren drei mit der numerischen Apertur 1·40. Letzteres wird vornehmlich für ganz schiefe Beleuchtung gewählt. Die plane Seite der Frontlinse von I hat eine solche Form, dass sie beim Gebrauch den Objectträger (p. 18) an der Unterseite fast berührt. Gilt es, dem Object möglichst viel Licht zuzuführen, so bringt man auf die Planfläche der Linse einen Tropfen Wasser, der sich beim Hochschieben des Apparates mit dem Objectträger verbindet (Immersions-Condensor; vgl. p. 23), alsdann würde für das System ein Oeffnungswinkel von fast 130° resultiren.



38.

Die Einrichtung des Abbe'schen Beleuchtungsapparates erhellt aus Figur 39, welche denselben in der Ausführung von Winkel darstellt. Er besteht aus drei Theilen, dem Träger der Beleuchtungssysteme *i*, dem Blendapparat *c* und dem Spiegel *s*. Diese Theile sind an der Verticalstange *t* befestigt, letztere wird in eine entsprechende Führung des Stativs unterhalb des Tisches eingeschoben (vgl. Figur 27 auf p. 31) und kann durch Trieb höher oder tiefer geschraubt werden, wodurch man den Apparat dem Objecttisch nähert oder von ihm entfernt. Schraubt man den Apparat ganz hinauf, so füllt *l* die Tischöffnung aus.

Der Träger *i* hat eine Schlittenführung *mm*; in diese ist durch die Handhabe *k* ein Schlitten einzuschieben, welchem man eins der beiden Beleuchtungssysteme *l* aufsetzen kann. Die Blendplatte mit Kerbrand *d* ist auf ihrer Unterlage *c* drehbar angebracht; *c* ist durch den doppelten Winkelarm *b* und das Gelenk *a* mit *t* verbunden und lässt sich, wie die Abbildung zeigt, seitlich unter *i* hervorziehen (zum Wechseln der Blenden) und durch einen Druck mit dem Finger wieder centrisch unter *i* und über *s* bringen. Die Blendplatte *d* (und entsprechend ihre Unterlage *c*) besitzt in der Mitte einen grossen, kreisrunden Ausschnitt. Auf ihr ruht



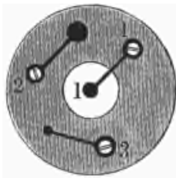

39.

die Platte *g* mit gleichem Ausschnitt; *g* ist durch eine Führung und dem Trieb *F* mit der Handschraube *e* hin und her beweglich. In den Ausschnitt von *g* passen Blendscheiben mit verschieden grossen Oeffnungen (*h*). Legt man eine solche ein und klappt *db* unter *i*, so wird, wenn die Blendöffnung sich genau unter *l* befindet, ein centraler Beleuchtungskegel von einer durch die Grösse der Blendung bedingten Oeffnung zur Wirkung kommen. Bewegt man nun *g* durch Drehen von *e* seitwärts, so wird die Einfallsrichtung dieses Kegels allmählig eine seitlichere werden. Ist hierin ein gewisses Optimum erreicht, so lässt sich durch Drehen von *d* an ihrem Kerbrande der seitlich einfallende Beleuchtungskegel um das Präparat herumführen.

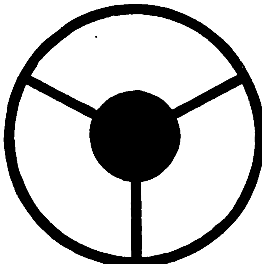
Es wurde oben (p. 39) betont, dass sich bei der gewöhnlichen Cylinderblende durch Herabziehen des Blendcylinders die Beleuchtung leicht und continuirlich ändern lasse — diesen Vortheil besitzt der Abbe'sche Beleuchtungsapparat nicht. Um dies zu ermöglichen, ist die Anwendung einer Irisblende nöthig, wie solche bei astronomischen Instrumenten seit lange in Gebrauch ist und kürzlich von Zeiss auch dem Abbe'schen Apparate angepasst wurde. Dieselbe (Figur 40; Construction von Zeiss, halbe nat. Gr.) zeigt von unten sechs sichelförmige, geschwärzte Blechplatten, die mit ihrem einen Ende in der Trommel drehbar befestigt sind. Ihre gegenseitige Verbindung ist derartig, dass sie durch den rechts oben sichtbaren Griff alle gleichzeitig gedreht werden. Während der Drehung verengt sich die Blendöffnung continuirlich, obwohl ihre Gestalt annähernd kreisförmig bleibt.



40.




41.

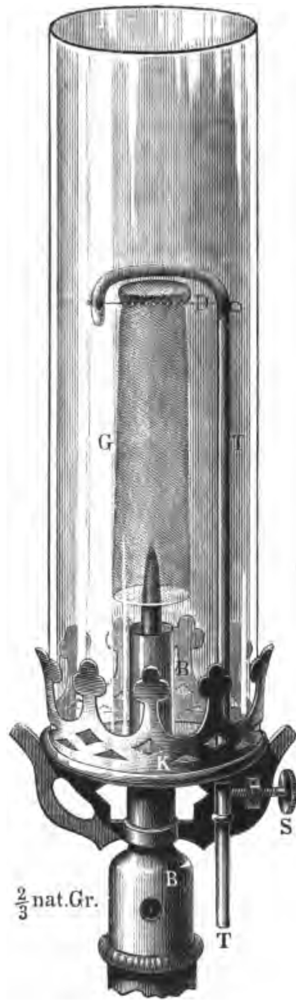


42.

Blenden mit centraler Oeffnung lassen die mittleren Parthien des Beleuchtungskegels zur Verwendung kommen. Zum Studium mancher Structuren kann es von Nutzen sein, die Mittelparthie des Beleuchtungskegels abzuschneiden und nur die Randstrahlen zur Wirkung kommen zu lassen. Es erscheint dann das Bild hellleuchtend auf dunklem Grunde (Dunkelfeld-Beleuchtung). Die früheren Condensoren hatten zu diesem Zwecke schwarze Scheibchen (Figur 41), die an schmalen Stielen drehbar waren und in die Mitte der Condensorlinse geschoben werden konnten. Beim Abbe'schen Apparate bestehen die Dunkelfeld-Blenden (Figur 42) aus einem schmalen, in die Oeffnung von *g* (Figur 39) passenden Metallring, der an drei schmalen Speichen eine mittlere, geschwärzte Scheibe trägt.

Mit allen diesen Blendvorrichtungen ausgestattet, lässt der Abbe'sche Apparat so mannichfache Modificationen in der Beleuchtung zu wie kein anderer. Schaltet man jegliche Blende aus, so erlaubt die sehr grosse numerische Apertur der Beleuchtungssysteme die Beob-

achtung mit einem die ganze Oeffnung des Objectivs ausfüllenden Beleuchtungskegel. Diese Beleuchtungsart ist im allgemeinen unstatthaft, wo es sich aber darum handelt, sehr kleine, künstlich gefärbte, in ungefärbten Geweben lagernde Objecte (z. B. Bacterien) nachzuweisen, da kann eine solche „Isolirung des Farbenbildes“ von grossem Nutzen sein. Man erblickt dabei nur die tingirten Gebilde, während die, andere Brechungsverhältnisse besitzenden, umgebenden Gewebe dem Auge verschwinden.



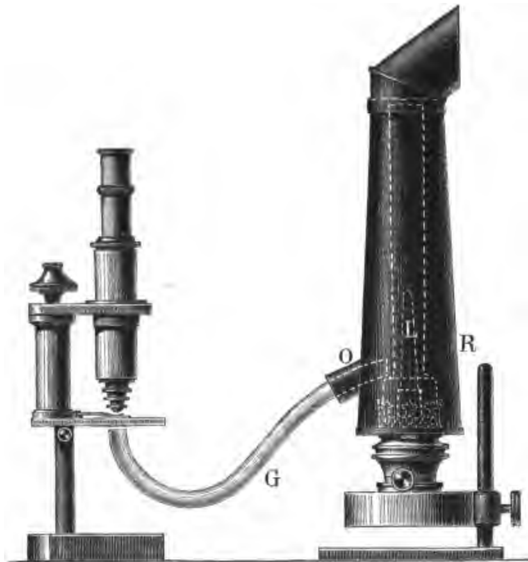
43.

Die beste Lichtquelle zum Mikroskopiren ist zweifellos das von einer weissen Wolke oder einer weissen Wand reflectirte, diffuse Tageslicht. Viel weniger zu empfehlen ist das des blauen, unbewölkten Himmels. Ist man gezwungen, abends zu mikroskopiren, so ist man auf Petroleum- oder Gasbeleuchtung angewiesen. Man kann dann, um die vielen gelben Strahlen dieser Lichtquellen auszuschalten, auf die Blendöffnung des Abbe'schen Apparates oder auf die Blendkappe der gewöhnlichen Cylinderblende eine kleine, kreisförmige, unten mattgeschliffene Platte von blauem Kobaltglas legen, wodurch das Licht dem Auge viel angenehmer gemacht wird. Die vielen, in England und America gebräuchlichen Mikroskopirlampen taugen alle nichts, haben wenigstens nichts vor einer gut brennenden Petroleumlampe voraus.

Wo Gaslicht zur Verfügung steht und die Lampe an demselben Orte stehen bleiben kann, empfiehlt sich die Anschaffung des Auer'schen Glühlichtes, der besten künstlichen Lichtquelle zum Mikroskopiren, die wir besitzen. Dasselbe besteht aus einem Bunsenbrenner *BB* (Figur 43), über den auf den Cylinderkranz *K* ein Glascylinder gestülpt wird. Durch die Schraube *S* ist innerhalb des Cylinders ein Metallstab *T* beweglich, an dem vermittels des Platindrahts *D* der Glühkörper *G*

hängt. Letzterer, aus Mineralbestandtheilen präparirt und vorher zu Asche verbrannt, kann durch *S* in Bezug auf *B* höher oder tiefer gestellt werden. Zur Benutzung öffnet man den Gashahn und hält über den Cylinder ein brennendes Zündholz, worauf der Körper *G* alsbald in starke Weissgluth geräth, welche unverändert anhält. Das von dem glühenden Körper zum Mikroskopiren entnommene Licht kommt dem Tageslicht an Farbe sehr nahe.

In neuester Zeit ist von Kochs-Wolz ein Beleuchtungsapparat für das Mikroskop construirt worden, der Petroleumlicht als Leuchtquelle



44.

benutzt und der sich im Princip von allen anderen wesentlich unterscheidet (Figur 44). Hinter der mit Cylinder umgebenen, durch ein undurchtiges Rohr verdeckten Flamme *L* befindet sich der Reflector *R*, vor derselben ist in dem undurchsichtigen Rohre die Oeffnung *O* angebracht. In letztere passt mit durchbohrtem Kork der eigenthümlich gebogene Glasstab *G* von 1 cm Dicke. In diesem fliesst ein von *L* ausgehender Lichtstrom, der an der Grenze von Glas und Luft eine totale Reflexion erleidet, so dass der Stab äusserlich dunkel erscheint. Der Lichtstrom tritt an dem vorderen, horizontal abgeschnittenen Ende des Stabes, welches dicht unter die Tischöffnung des Mikroskopes zu bringen ist, aus und beleuchtet das Object mit der Intensität der benutzten Flamme, abzüglich des Lichtverlustes, welcher durch Unreinigkeiten des leitenden Glases unterwegs bedingt ist.

## 4. Der Tisch.

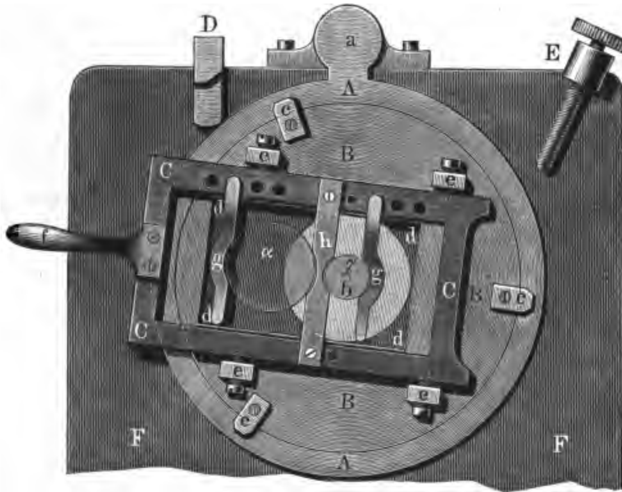
Der Tisch, Objecttisch oder Mikroskoptisch, ist eine solide, viereckige, seltener achteckige oder runde Platte, auf welche das Object mit seinem Objectträger gelegt wird (vgl. Figur 27 auf p. 31). Es kommt über die runde Tischöffnung *o* (Figur 45) zu liegen und wird durch zwei in seitliche Löcher (*i i*) einzusteckende, federnde Klammern, die Objectklammern, festgehalten (Figur 28). In *d* erhebt sich die den Tubus tragende Mikroskopsäule. Bei grösseren Instrumenten stellt man wohl den Tisch aus zwei Platten her, deren obere, runde auf der unteren rotirt, man erhält hierdurch den drehbaren Tisch (Figur 17, 27). Er erlaubt, das Präparat um sich selbst zu drehen, ohne es zu berühren. Ist der Rand der drehbaren Platte mit einer Gradtheilung versehen, so kann überdies die Grösse der ausgeführten Drehung bestimmt werden.



45.

Für gewöhnliche Beobachtungen legt man den Objectträger mit dem Präparat frei auf den Tisch und verschiebt ihn, um verschiedene Theile des Präparats kennen zu lernen, mit den Fingern. Da das zusammengesetzte Mikroskop ein umgekehrtes Bild erzeugt (p. 14), so muss man, will man die linke Seite des Präparats betrachten, dasselbe nach rechts schieben und umgekehrt. An diese entgegengesetzte Bewegung gewöhnt man sich aber so leicht, dass man sie schon nach kurzem unbewusst ausführt. — In manchen Fällen ist es jedoch sehr zweckmässig, wenn man ein Präparat durch mechanische Vorrichtungen auf dem Tische verschieben kann; einen hierzu dienenden Apparat nennt man einen beweglichen Objecttisch. Bewegliche Objecttische werden auf der Oberfläche des Tisches festgeschraubt; man gebraucht sie vornehmlich, um kleine und zarte Präparate unter dem Mikroskope auszusuchen und zu arrangiren, und um fertige Präparate systematisch zu durchmustern, abzusuchen.[1]

Ein beweglicher Objecttisch, der dem speciellen Zwecke dient, aus einer Anzahl von kleinen Gewebsschnitten oder mikroskopischen Organismen die für die Beobachtung passendsten Exemplare auszusuchen und isolirt unterzubringen, ist von Debes construirt worden (Figur 46). Er besteht aut einem Kreisrahmen *A*, welcher vermittels *a* vorn an den Mikroskoptisch *F* geschraubt ist und sich um die Achse *a* drehen lässt. Durch die verschiebbare Klemme *D* und die Stellschraube *E* wird die pendelnde Bewegung von *A*, wobei der Mittelpunkt *b* stets durch die Mitte der Mikroskoptisch-Oeffnung geht, in den gewünschten Grenzen

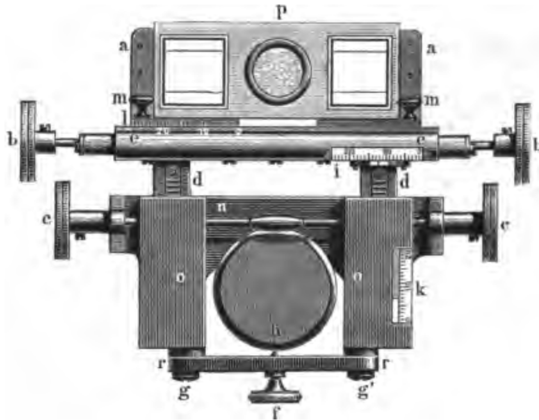



46.

gehalten. In *A* lässt sich die Metallscheibe *B* mit mittlerer Oeffnung rotirend verschieben. Sie trägt den Messingrahmen *C*, der durch die Schrauben *eeee* mit ihr fest, jedoch justirbar verbunden ist. Dreht man *C* mittels der Handhabe *F*, so bewegt sich damit *B* in *A*. In dem viereckigen Ausschnitt *dddd* liegt eine Spiegelglasplatte; über *C* ist verstellbar der Metallsteg *h* festgeschraubt, der zwei verschieden grosse Ausschnitte besitzt, in welchen durch die versetzbaren Federklammern *gg* zwei Deckgläschen $\alpha$ und $\gamma$ festgehalten werden. Zum Gebrauch spannt man bei $\gamma$ ein ganz reines Deckgläschen ein und schiebt *D* so weit vor- oder rückwärts, dass, wenn *A* an *D* anschlägt, $\gamma$ sich genau in der Mitte des Gesichtsfeldes vom Mikroskop befindet. Dann bringt man das auszusuchende Material auf ein Deckgläschen in wenig Flüssigkeit und spannt es bei $\alpha$ ein. Durch Bewegung von *A* nach *E* hin und

durch Drehen an der Handhabe $F$ bringt man dieses letztere ins Gesichtsfeld, das zu isolirende Stück in die Mitte, hebt es mit einer Präparirnadel oder dergl. unter dem Mikroskope hoch, schiebt $A$ bis zum Anschlagen an $D$ zurück und senkt die Nadel mit dem Präparat, wodurch dieses in die Mitte von $\gamma$ übertragen wird.

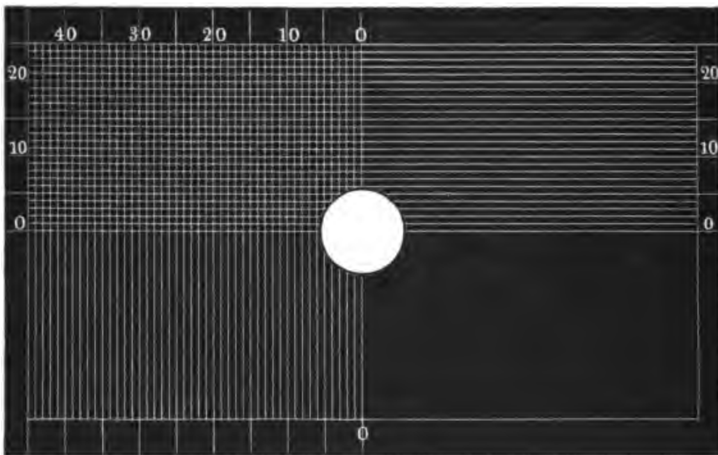
Mechanische Objecttische, welche das Absuchen eines Präparates und das schnelle Wiederfinden einer wichtigen Stelle ermöglichen und daher auch Finder genannt werden, giebt es in verschiedenen Constructionen. Wir betrachten hier die neue Form des beweglichen Objecttisches von REICHERT (Figur 47). Zwei rechtwinklige Metallarme *a a* nehmen das Präparat *p* auf, indem man ihnen an den Knöpfen *m m* (mit der Theilung *l*) durch Verschieben in der Querrichtung die gewünschte Stellung giebt. Das in *a a* fixirte Präparat wird durch Drehen der Schraubenköpfe *b b*, deren Achse durch die Hülse *e e* geht, in der Querrichtung langsam verschoben, und die Grösse dieser Querverschiebung wird durch die Theilung *i* angezeigt. Mit dem Vorderkörper des Apparates sind die nach hinten gerichteten Triebstangen *d d* fest verbunden, welche durch die Schraubenköpfe *c c* in der Längsrichtung vor- und rückwärts bewegt werden können und auf die Theilung *k* einspielen. Die Befestigung des Apparates auf dem Mikroskoptische geschieht folgendermaassen: Man lüftet die Schraube *g* etwas, alsdann lässt sich der Messingstab *r r* in *g'* um 90° nach oben drehen. Nun schiebt man die Platte *n*, die vorn bogig ausgeschnitten ist, vorn an die Mikroskopsäule *h*, die zu diesem Zwecke natürlich rund sein muss, so dass *a*, *a*, *n* dem Tische aufliegen, klappt *r r* herab, zieht *g* an und dreht die Schraube *f* so weit vor, dass sie fest an *h* drückt. In dieser Stellung liegt dann der Objectträger dem Mikroskoptische selbst auf. Hat man nun beim Absuchen des Präparates durch Drehen an *b* und *c* eine wichtige Stelle entdeckt, so kann man diese leicht wiederfinden, wenn man sich die



47.

Stellung der drei Theilungen *i*, *k*, *l* notirt hat und später, nach gleichem Einspannen des Präparates, diese drei Stellungen wieder hervorbringt.

Handelt es sich lediglich darum, wichtige Stellen eines Präparates später wiederzufinden, so kann man mit einfacheren Vorrichtungen auskommen, mit einem sogenannten Indicator. Ein sehr einfacher Indicator entsteht, wenn man auf den Tisch, rechts und links von der Oeffnung, ein Kreuz einritzt, das eine +, das andere ×, und nun, nachdem man die zu markirende Stelle des Präparates in die Mitte des Gesichtsfeldes gebracht hat, auf dem Objectträger Tintezeichen anbringt, die sich mit den eingeritzten Kreuzen decken. Eine vollkommenere

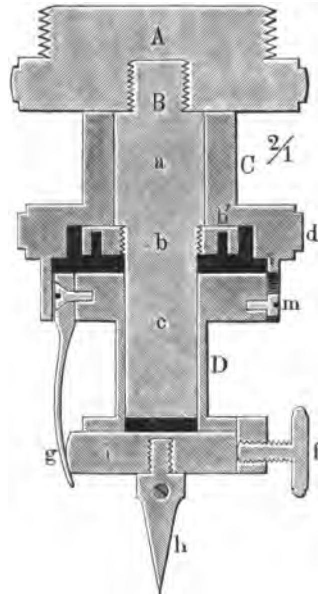



48.

Gestalt gewinnt der Indicator, wenn er (nach Grunow's Angabe) aus zwei rechtwinkligen, dem Objecttische eingeritzten Liniensystemen wie in Figur 48 besteht. Liegt die zu markirende Präparatstelle im Gesichtsfelde, so braucht man nur die Lage der beiden oberen und der linken unteren Ecken des Objectträgers bezüglich des Coordinatensystems zu notiren, um später bei gleicher Lage die gewünschte Stelle schnell wieder aufzufinden.

Einem gleichen Zwecke dient auch der Winkel'sche Markirapparat, der zwar kein Theil des Objecttisches ist, aber trotzdem an dieser Stelle besprochen werden soll. Mit demselben werden die im Präparat wiederzusuchenden Stellen durch kleine, vermittels einer Diamantspitze in das Deckglas geritzte Kreise kenntlich gemacht (Figur 49). Ein solider Metallcylinder *Bc* ist mit dem Stück *A* fest verbunden.

Sein oberer Theil *a* hat den grössten Durchmesser, und über ihn ist eine Drehhülse *C* mit gekerbtem Rande *d* geschoben, welche durch die Schraubenmutterplatte *b'* fixirt wird, doch so, dass sie sich um *a* sanft drehen lässt. Ueber das untere, etwas dünnere Achsenstück *c* passt eine zweite Drehhülse *D*; dieselbe wird durch einen Schraubenstift *m*, der in einem 3 mm langen Längsschlitz von *d* eingreift, mit *c* verbunden, so dass also beide Drehhülsen (*C*, *D*) sich um ihre gemeinsame Achse drehen, wenn man sie durch *d* in Bewegung setzt. Die Hülse *D* trägt den mit Diamantspitze versehenen Stift *h*. Dieser kann, da er an einem Schlitten *i* befindlich ist, durch die Schraube *f* und die Gegenfeder *g* mehr oder minder excentrisch in Bezug auf *B* gestellt werden. — Zum Gebrauch schraubt man, nachdem die zu markirende Präparatstelle in die Mitte des Gesichtsfeldes gebracht und der Objectträger durch die Tischklammern festgelegt wurde, das Objectivsystem vom Tubus ab und ersetzt es durch den Markirapparat, giebt *h* eine dem gewünschten Kreisdurchmesser entsprechende Stellung und senkt den Tubus soweit, dass der Schraubenstift *m* in seinem Schlitze etwas gehoben wird. Dann drückt die Hülse *Dih* mit ihrem Gewichte die Spitze auf das Deckgläschen. Dreht man nun C an *d* einmal um sich selbst, so ritzt *h* einen zarten Kreis in das Deckglas, in dessen Mittelpunkt sich die zu markirende Stelle befindet. —



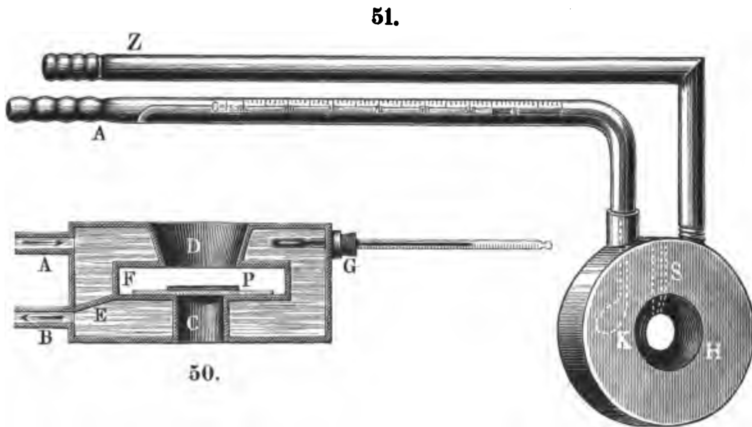
49.

In manchen Fällen ist es nöthig, das unter dem Mikroskop liegende Object bei erhöhter Temperatur zu beobachten. Dazu dient der **heizbare Objecttisch**. Der erste brauchbare dieser Tische wurde von Max Schulze angegeben. Er bestand aus einer dem Mikroskoptisch aufzulegenden Messingplatte mit mittlerer Oeffnung und zwei seitlichen, nach vorn umbiegenden, langen Zinken, auf die zwei brennende Spirituslampen solange einwirkten, bis ein unter der Platte angebrachtes Thermometer die gewünschte Temperatur anzeigte. — Die neueren Heiztische wenden zur Erwärmung des Objects warmes Wasser an, welches constantere Temperaturen ermöglicht.

Der heizbare Objecttisch von Ranvier (Figur 50) besteht aus einem blechernen Kasten, in dessen innere Höhlung *F* seitlich das Präparat *P* gelegt wird. Bei *D* befindet sich eine trichterförmige Oeffnung zur Aufnahme des mit Watte umwickelten Objectivs, bei *C* eine solche für die Lichtzufuhr. Durch die Röhre *A* wird das erhitzte Wasser zugeleitet (die Scheidewand *E* hat den Zweck, es möglichst lange um das Präparat circuliren zu lassen), durch *B* fliesst es wieder ab. Das Thermometer *G* giebt die im Wasser herrschende Temperatur an.

Eine Erwärmungsvorrichtung, welche auf das, dem Mikroskoptische aufliegende, also von den Beleuchtungsvorrichtungen nicht entfernte Präparat gestellt wird, hat Israel angegeben. Sie besteht (Figur 51)

51.




50.

aus einem runden Metallkasten mit centraler Oeffnung *H* zum Einführen des Objectivs und der Scheidewand *S*. Durch das Metallrohr *Z* wird das erwärmte Wasser zugeführt, durch das mit Thermometer *K* montirte Glasrohr *A* abgeleitet.

Auch der heizbare Objecttisch für starke Vergrösserungen von Löwit (Figur 52) gestattet, das Object direct über den Condensor *C* zu legen, welcher, eigens für den Heiztisch construirt, vermittels eines Schlüssels in der Oeffnung desselben befestigt wird. Durch die Schrauben *A A* wird der Heiztisch auf dem Mikroskoptisch befestigt und centrirt; *B B* sind Zu- und Ableitungsrohr für das erhitzte Wasser; dasselbe verbreitet sich im Tische in einem durch die Figur verdeutlichten Röhrensystem. *T* ist das Thermometer.

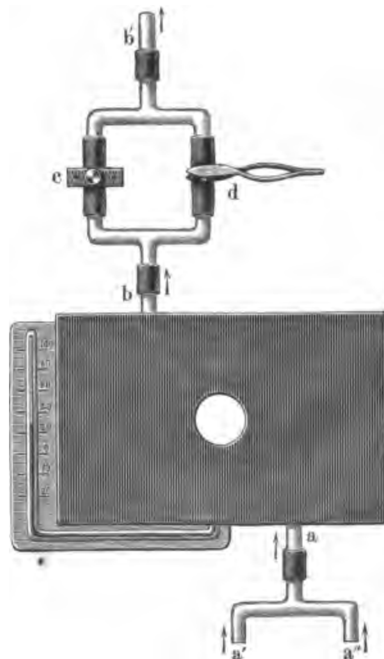
Ein Heiztisch, der einen schnellen Temperaturwechsel ermöglicht, ist von Flesch construirt worden (Figur 53). Durch das Rohr *a′ a* tritt heisses Wasser in den Tisch, fliesst durch *b*, *c*, *b′* ab, und zwar tropfen-

weise, da der verstellbare Quetschhahn *c* nur wenig geöffnet ist; *d* ist durch eine Klemme geschlossen. Will man nun plötzlich kaltes Wasser durch den Tisch senden, so verbindet man *a''* mit einem solches zuführenden Kautschukschlauch, öffnet *d*, worauf das im Tisch befindliche, heisse Wasser schnell abfliesst, schliesst *d* wieder und erzielt dadurch nunmehriges tropfenweises Abfliessen durch *c*. —




52.

Nicht selten müssen Präparate längere Zeit hindurch beobachtet werden, und es darf während dieser Zeit der Beobachtungstropfen nicht austrocknen. Hierzu hat man Apparate ersonnen, welche f e u c h t e K a m m e r n heissen.




53.

Recklinghausen kittet auf den Objectträger um das Deckglas einen weiten, hohen, oben sich verjüngenden Glasring und zieht über diesen ein passendes Kautschukrohr, welches um den Mikroskoptubus mit einer Schnur befestigt wird, so dass also das Objectivsystem sich mit in der feuchten Kammer befindet.

Eine andere derartige Vorrichtung entsteht, wenn man auf einen Objectträger eine Glaszelle kittet und auf diese das Deckglas legt. Letzteres enthält auf der Unterseite im h ä n g e n d e n T r o p f e n das Object, z. B. lebende Organismen. In den von der Glaszelle gebildeten Innenraum kann man seitlich einige Wassertropfen anbringen, so dass

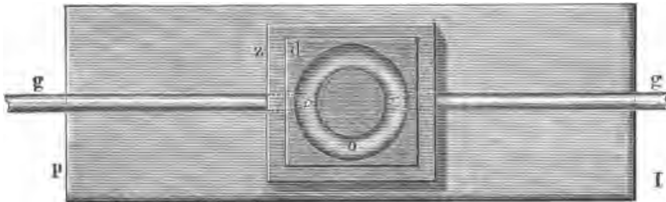
die Verdunstung des hängenden Tropfens lange verzögert wird. Es giebt auch käufliche Objectträger mit Ausschnitten und Kreisrinnen zur Herstellung feuchter Kammern.

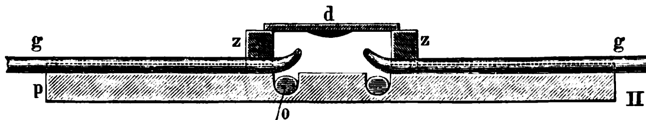
Sehr empfehlenswerth ist die feuchte Kammer von STRASBURGER. Auf einen Objectträger legt man über einander zwei bis drei Rahmen von dicker, lockerer Pappe, etwa von der Gestalt Figur 54, die man vorher mit Wasser durchtränkt hatte. Das Deckglas mit hängendem Tropfen kommt auf den Ausschnitt der oberen Platte zu liegen. Werden täglich die Pappescheiben seitlich mit etwas Wasser angefeuchtet, so hält sich der hängende Tropfen viele Tage lang ohne zu verdunsten.



54.

Giebt man der feuchten Kammer eine Einrichtung, dass man gewisse Gase durch sie hindurchleiten kann, um nach Verdrängung der atmosphärischen Luft unter deren Einflusse niedere Organismen etc. zu beobachten, so entsteht die Gaskammer, von der wir hier die von STRICKER eingeführte Form betrachten (Figur 55). Dem mit Kreisrinne *o* zur Aufnahme von Verdunstungswasser versehenen Objectträger *p* sind in zwei Längsrinnen

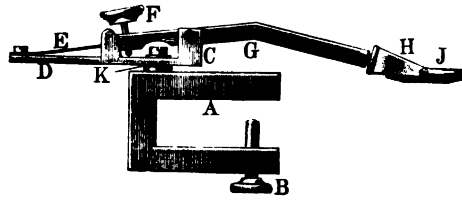



55.

die Glasröhren *gg* aufgekittet. Dieselben treten durch Ausschnitte einer ziemlich hohen Glaszelle *z*; an den Durchschnittsstellen sind sie luftdicht verkittet. Das Präparat kommt im hängenden Tropfen auf das Deckglas *d*; letzteres wird mit Canadabalsam oder dergl. der Zelle *z* luftdicht aufgekittet. Man verbindet eine der Röhren *g* mit dem Gasentwicklungsapparat und regulirt den Durchtritt des vorher gewaschenen Gases durch einen am anderen Rohr angebrachten, verstellbaren Quetschhahn. —

Als ein letztes, zum Mikroskoptisch gehörendes Requisit haben wir das Compressorium zu beschreiben, eine Vorrichtung, vermittels welcher man auf ein Präparat einen gelinden oder stärkeren, auch continuirlich zu verstärkenden, regulirbaren Druck ausüben kann. Figur 56 stellt eine von Schacht angegebene, kürzlich von Fr. Eilh. Schulze verbesserte Construction in halber Grösse dar. Die Schraubzwinge *A* wird mit der Schraube *B* an den Objecttisch geschraubt (eine das Federn verhindernde Klammer ist in der Figur fortgelassen). *A* trägt um *K* drehbar den Support *CD*; in *C* ist beweglich der Kniehebel *G*, der durch *F* höher oder tiefer gestellt werden kann. Der Bewegung von *F* wirkt die Stahlfeder *E* entgegen. In *G* ist die halbkreisförmige Gabel *H* drehbar, an der der geschwärzte, unten etwas conisch zugehende Metallring *J* befestigt ist (mittlere Oeffnung 12 mm). Zur Ausübung von Druck schraubt man den Apparat so an den Tisch, dass die Oeffnung von *J* auf das Deckglas des genau eingestellten Präparates zu liegen kommt; man kann nun durch Vordrehen von *F* den Druck beliebig steigern.



56.

## 5. Das optische Vermögen des Mikroskopes.

Das optische Vermögen, die Leistungsfähigkeit des optischen Apparates des Mikroskops ist in erster Linie abhängig von der Vollkommenheit des Objectivsystems. Es sind vornehmlich drei Factoren des Objectivs, welche die Güte des mikroskopischen Bildes bedingen, nämlich die Höhe der Vergrösserung (Vergrösserungsvermögen), die Fähigkeit, die mikroskopischen Bilder scharf, mit deutlichen Umrissen darzustellen (Begrenzungsvermögen), endlich die Fähigkeit, möglichst viele Einzelheiten, zarte Structuren des Objectes zur Anschauung zu bringen (Abbildungsvermögen). Jedem dieser drei Factoren wollen wir eine kurze Besprechung widmen.

Die Gesammtvergrösserung des Mikroskopes setzt sich zusammen aus der Vergrösserung des Objectivs (Focalwirkung) und der des Oculars verbunden mit einer entsprechenden Tubuslänge (Angularvergrösserung). Die Vergrösserung des Objectivs ist abhängig von

dessen Brennweite, und zwar ist sie um so grösser, je kleiner die Brennweite ist, sie ist letzterer umgekehrt proportional. Die Flächenausbreitung des vom Objectiv erzeugten, reellen Bildes durch das Ocular, die Angularvergrösserung, ist nicht unbegrenzt. Sie darf sich vielmehr nur in sehr engen Grenzen bewegen, und eine stärkere als zehnfache Ocularvergrösserung dürfte nur in den seltensten Fällen statthaft sein. Stärkere Trockensysteme vertragen eine fünffache, schwächere und mittlere Trockensysteme sowie Wasserimmersionen eine sechs- bis achtfache, Oelimmersionen die stärksten Angularvergrösserungen. Immer aber gilt als Regel, dass man zur Erzeugung einer gewissen Vergrösserung starke Objective mit schwachen Ocularen zu vereinigen hat, nie umgekehrt starke Oculare mit schwachen Objectiven. Bei schwachen Trockensystemen soll man die Vergrösserung nicht über 150 treiben, bei mittleren nicht über 400, bei stärkeren nicht über 700; schwache Wasserimmersionen vertragen eine 500- bis 600fache, starke eine 1500- bis 1700fache Gesammtvergrösserung.

Die ziffermässige Bestimmung der Vergrösserung eines Objectivs bietet keine Schwierigkeiten und kann leicht ausgeführt werden. Da aber die Optiker über ihre Systeme genaue bezügliche Angaben machen, so dürfte eine solche Bestimmung nur sehr selten nöthig werden, und wir sehen daher von einer Besprechung dieses Themas ab.

Die Gleichmässigkeit der Vergrösserung an allen Stellen des Bildes beruht in der Vollkommenheit des Systemes bezüglich der richtigen Vereinigung des Strahlen, sodann in der guten Form der Linsen, welche nicht im geringsten unsymmetrisch sein dürfen, endlich in der richtigen Zusammenfügung der einzelnen und ihrer genauen Centrirung. Eine Ungleichmässigkeit macht sich geltend in einer Verzerrung des Bildes an den Randparthien, einer mehr oder minder starken Wölbung desselben und in gewissen Farbenerscheinungen.

Das Begrenzungsvermögen, auch Zeichnungsvermögen oder Definition eines Systemes ist die Fähigkeit, ein möglichst farbenreines und scharfes Bild zu liefern, ein Factor, der gänzlich im Objectiv liegt und auf den das Ocular ohne Einfluss ist. Er wird bedingt, ausser durch genaue Centrirung der Linsen und ihre vollkommne Form, durch möglichste Beseitigung der sphärischen und chromatischen Aberration (p. 15 ff.) bei völligem Aplanatismus. Ausserdem darf die numerische Apertur (p. 24) nicht über ein gewisses Maass hinausgetrieben werden.

Dass die sphärische und die chromatische Abweichung sich grösstentheils überwinden lassen, haben wir früher (p. 17) auseinandergesetzt. Letztere ist jedoch nur theilweise zu heben, denn wenn z. B. die rothen

und violetten Strahlen auf die gleiche Brennweite gebracht sind, und dadurch diese beiden Spectralfarben vereinigt wurden, so gilt das nicht für die dazwischenliegenden. Diese werden immer noch eine Farbenabweichung (secundäre Farbenabweichung) bedingen, welche sich als Säume mittlerer Farben (gelb, grün) im Bilde zu erkennen geben. Hier hilft man sich wieder durch geeignete Vereinigung mehrer Achromate und drückt dadurch die secundäre Abweichung auf einen nicht belangreichen Rest herab. Ebenso ist es bislang unmöglich gewesen, einen anderen Uebelstand zu bemeistern, der sich in weiteren Farbenerscheinungen geltend macht, von denen eine z. B. ihren Grund hat in der nicht gleichartigen Farbenvereinigung für Strahlenkegel, die unter verschiedener Neigung in das Objectiv treten. Diese Erscheinung bezeichnet man als die chromatische Differenz der sphärischen Abweichung, sie documentirt sich durch verschiedenartige Färbung der Mittel- und Randparthien des Bildes. Auch diesen Uebelstand hat man zu überwinden versucht, wenn es auch bislang nicht möglich war, ein völlig farbloses Bild zu erzielen. Vielmehr gleicht man die Systeme so aus, dass sie für Strahlen einer Lichtgattung ein möglichst scharfes Bild liefern, gewöhnlich für Grüngelb (bei Systemen zur Photographie für Blauviolett).

Erst in neuester Zeit hat Abbe bewiesen, dass sich durch Verwendung anderer Arten optischer Gläser Systeme herstellen lassen, bei denen drei Farben auf die gleiche Brennweite gebracht, die sphärische Abweichung für zwei Farben corrigirt werden, und die Farbencorrection für alle Zonen des Gesichtsfeldes eine gleich richtige sein kann. Sie heissen Apochromate und geben in allen Parthien fast völlig farblose Bilder von gleicher Schärfe für alle Farben des Spectrums.

Unter Abbildungsvermögen (Auflösungsvermögen und Unterscheidungsvermögen) begreift man die Fähigkeit eines Objectivs, kleine und zarte Structuren eines Objectes zur Anschauung zu bringen. Diese Fähigkeit steht im geraden Verhältnisse zur Oeffnung, oder genauer gesagt, zur numerischen Apertur (p. 24) des Systems. Je grösser die numerische Apertur, desto stärker das Abbildungsvermögen. Das Bestreben der Optiker ist in der Neuzeit besonders darauf gerichtet, bei ihren Systemen eine möglichst grosse Apertur zu erreichen. Wird diese jedoch über ein gewisses Maass hinaufgetrieben, so wird dadurch das Begrenzungsvermögen herabgemindert, zumal dann, wenn den Correctionen der Abweichungen nicht die gleiche Sorgfalt gewidmet wird. Man sollte hier zumal bei mittleren Systemen ein gewisses Optimum nicht überschreiten, denn für den Histologen ist bei

diesen das Begrenzungsvermögen von mindestens derselben Wichtigkeit wie das Abbildungsvermögen. Zeiss fertigt z. B. aus diesem Grunde seine mittleren Systeme in doppelter Ausführung an, einmal mit geringerer, dann mit höherer Apertur; letztere sind für die Zwecke des Histologen zweifellos weniger empfehlenswerth als erstere.

Gewöhnlich wird mit dem Abbildungsvermögen das sogenannte Durchdringungsvermögen oder die Penetration verwechselt, obgleich beide im Gegensatze zu einander stehen. Unter Penetration versteht man die Fähigkeit eines Systems, nicht nur die eingestellte Bildebene zur Anschauung zu bringen, sondern gleichzeitig weitere Bildebenen, die dieser zwar nahe, aber in verschiedenen Tiefen liegen (Tiefenzeichnung). Diese Eigenthümlichkeit beruht nach Abbe's Untersuchungen einestheils auf der Accomodationsfähigkeit unseres Auges, wodurch unbewusst Bilder in verschiedenen Tiefen gleichzeitig eingestellt werden, sodann in der Unempfindlichkeit desselben gegen kleine Fehler in der Strahlenvereinigung, woraus die eigentliche Focustiefe resultirt. Abgesehen von dem Einfluss, den das Einschlussmittel des Präparates auf sie ausübt, ist sie um so grösser, je schwächer die Vergrösserung und je geringer die numerische Apertur eines Systemes sind, sie ist um so geringer, je stärker beide werden. Bei schwachen Systemen und geringer Apertur ist sie vorwiegend bedingt durch die Accomodationsfähigkeit des Auges, bei starken tritt diese fast ganz ausser Wirksamkeit, und es kommt nur die eigentliche Focustiefe zur Geltung; absolut nimmt die Penetration bei starken Systemen sehr bald ab[1]. Wo eine möglichst grosse Penetration zum Verständniss des Bildes gewünscht wird, hat man daher Systeme mit geringen numerischen Aperturen zu wählen und zur Beleuchtung des Bildes enge Blenden zur Erzeugung enger Beleuchtungskegel anzuwenden.

Das Begrenzungs- wie das Abbildungsvermögen lassen sich durch geeignete mikroskopische Objecte, sogenannte Probeobjecte oder Testobjecte prüfen. Wir wollen hier einige der wichtigeren kurz erwähnen.

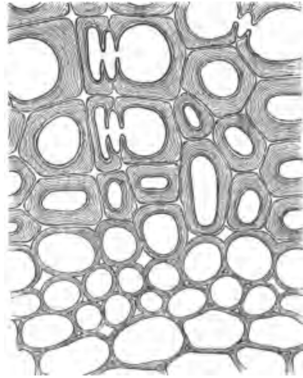
Begrenzungsvermögen. Zur Prüfung lässt sich die grössere Mehrzahl zarter mikroskopischer Schnitte verwenden, wenn dieselben aus einigermaassen scharf umgrenzten Theilen bestehen. Die Umrisse müssen als scharfe und dabei zarte, farblose oder von ganz schmalen, den secundären Farben angehörigen Farbensäumen begrenzte Linien er-

---

[1]) Die Penetration beträgt z. B. für ein System mit der numerischen Apertur 0·35 = 0·03 mm, für ein solches von 1·00 nur 0·002 mm.

scheinen. Ergeben sich verschwommene und noch dazu von breiten Primärfarben eingefasste Umrisse, so ist das ein Zeichen mangelhaften Begrenzungsvermögens.

Zur Prüfung des Begrenzungsvermögens schwächerer Systeme kann man z. B. die Tracheen von Insecten, die Muskelfasern von Wasserkäfern (Hydrophilus) oder Querschnitte durch Nadelhölzer benutzen. Bei den ersten müssen die Umrisse scharf, die spiraligen Querstreifen deutlich und nicht verschwommen, die Zwischenräume zwischen den einzelnen farblos erscheinen. An den in Glycerin zu beobachtenden Muskelfasern der Wasserkäfer müssen bei scharfen Umrissen die abwechselnd hellen und dunklen Scheiben deutlich zu erkennen, die hellen ungefärbt sein. Auf dem sehr leicht herzustellenden dünnen Querschnitt durch einen jungen Zweig eines Nadelholzes (Figur 57) sollen die inneren Zellconturen zart, aber scharf und dunkel, möglichst farblos erscheinen. Es eignet sich dieses Object wegen seiner völligen Unveränderlichkeit besonders für den vorliegenden Zweck.

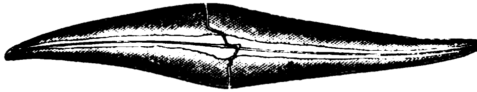


57.

Objecte zur Prüfung des Begrenzungsvermögens stärkerer und stärkster Systeme (von 0·8 numerischer Apertur [1] aufwärts) liefern z. B. Schleimkörperchen und Zellen des Pflasterepithels von der Mundschleimhaut, Kerntheilungsfiguren grösserer Zellkerne aus dem Schwanze der Salamanderlarve oder aus jungen Wurzeln von Bohne, Lauch etc., endlich zerbrochene Exemplare trocken eingelegter Diatomeen. Bei den in Wasser zu betrachtenden Schleimkörperchen und Epithelzellen sind es zumal die zarten Umrisse, die bei 300- bis 400facher Vergrösserung äusserst scharf und ungefärbt dargestellt sein müssen. Zellkerne eignen sich im tingirten Zustande für noch stärkere Vergrösserungen: ein scharfes Hervortreten der Kernspindel ist hier zu verlangen. Von

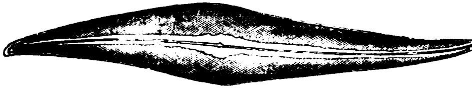
[1]) Im Folgenden werden die Systeme stets nach den numerischen Aperturen bezeichnet, denn die Angabe der Vergrösserung giebt kein Maass für ihre Leistungsfähigkeit. Die meisten Optiker geben für ihre Systeme die numerische Apertur an; wo nur der Oeffnungswinkel vermerkt ist, kann man die zugehörige Apertur nach der auf p. 24 gemachten Angabe leicht berechnen oder sie in für diesen Zweck berechneten Tabellen nachschlagen (Cfr. Behrens, W., Tabellen zum Gebrauch bei mikroskopischen Arbeiten, Braunschweig 1887, No. XXX, XXXI).

Diatomeen eignet sich vortrefflich Pleurosigma angulatum, dessen gebrochene Ränder ein sehr gutes Object für gleiche Vergrösserungen abgeben. Man sucht mechanisch zerrissene Exemplare auf (Figur 58), wie sie sich in jedem Präparate zahlreich finden. Die an einem solchen, in die Mitte des Gesichtsfeldes gerückten Risse sich zeigenden Farbensäume müssen ganz schmal sein und aus secundären Farben bestehen, die Ränder selbst dürfen weder breit noch verwaschen erscheinen.



58.

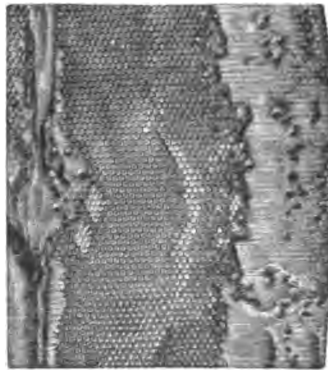
Abbildungsvermögen. Zur Prüfung des Abbildungsvermögens eignen sich solche Objecte, die mit zahlreichen sehr zarten, gleichmässigen und gleichmässig angeordneten Structuren versehen sind. Es sind besonders solche Diatomeen zu empfehlen, deren Kieselpanzer die zartesten Felderungen, Streifen etc. zeigen. Abgesehen von ihrem Einschlussmittel verhalten sie sich gegen gerade und schiefe Beleuchtung verschieden, bei letzterer sind ihre Structuren leichter zu lösen als bei ersterer.



59.



60.

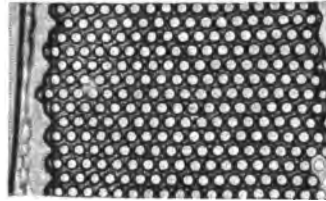


61.

Ein seit lange von den Mikrographen mit Vorliebe angewandtes Probeobject ist Pleurosigma angulatum. Mit schwächeren Systemen erscheinen auf der Diatomee Streifensysteme (Figur 59; Vergr. 200), welche sich bei Aperturen von 0·8 in Felderzeichnung auflösen (Figur 60; Vergr. 450). Bei Anwendung von Wasserimmersionen mit einer Apertur von 1·0 löst sich diese Felderung in ein Maschenwerk von regelmässigen Sechsecken auf (Figur 61; Vergr. 1200). Sehr starke Vergrösserungen lösen diese Sechsecke zu dunklen Kreisen auf, zwischen welchen die vollkommensten Oelimmersionen noch dunkle Punkte zeigen (Figur 62; Vergr. 3600, mit Winkel's homogener

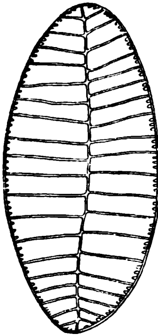
Immersion $^1/_{24}$ [1·26 num. Ap.], Ocular 2 und centraler Sonnenbeleuchtung, nach einer Originialphotographie von Herrn C. Winkel jun.)

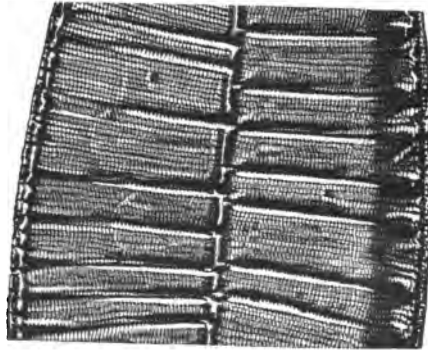
Sehr günstige Probeobjecte liefern diejenigen Diatomeen, deren Felderung hauptsächlich nach der Querrichtung stärker entwickelt ist und hier leichter gelöst wird, so dass diese Objecte nach der Lösung mit Querstreifen bedeckt erscheinen.


62.

Für schwächere Systeme giebt Pleurosigma balticum ein geeignetes derartiges Object ab. Trocken eingelegt wird die Querstreifung bei schiefer Beleuchtung mit Systemen von 0·40, bei centraler von 0·48 numerischer Apertur gelöst. Wird die Vergrösserung weiter getrieben, so erscheint hier eine Felderung wie in Figur 63 (Vergr. 460) und bei stärksten Vergrösserungen (für die vorliegendes Object jedoch nicht geeignet ist) erscheint eine analoge Structur wie in Figur 62, jedoch liegen hier die dunklen Kreise in der


63.


64.

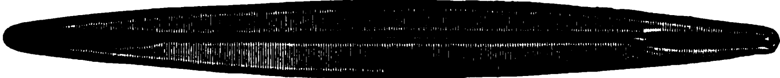

65.

Längsrichtung unter einander, nicht wie bei Pleurosigma angulatum in dem Intervall von je zwei darüberliegenden.

Ein vortreffliches Probeobject für mittlere, von Wasserimmersionen gelieferte Vergrösserungen (num. Ap. = 1·0 bis 1·20) bildet Surirella Gemma (trocken eingelegt). Während bei schwachen Vergrösserungen

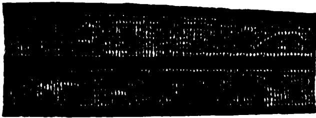
eine Lösung nicht stattfindet, und nur starke Querrippen zu erkennen sind, die die Diatomee zahlreich durchziehen (Figur 64; Vergr. 300), erscheinen bei numerischen Aperturen von 1·0 an zwischen diesen Querrippen sehr dicht gedrängte, äusserst zarte, diesen parallel laufende Rippen, welche sich bei Anwendung stärkster Wasser- und Homogenimmersionen in eine Felderung von langgezogenen Sechsecken auflösen, zumal bei schiefer Beleuchtung (Figur 65; Vergr. 1200).

Das schwierigste bekannte Probeobject bietet Amphipleura pellucida dar, welche, in Monobromnaphthalin oder Zinnchlorür eingelegt,



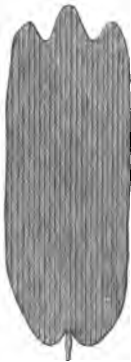
66.

bei schiefer Beleuchtung von den stärksten Systemen, vornehmlich Oelimmersionen gelöst wird. Figur 66 zeigt die durch ein stärkeres Oelsystem gelöste Diatomee (Vergr. 1200, mit Winkel's hom. Immers. $^1/_{20}$ [num. Ap. = 1·27], Ocular 2, schiefe Sonnenbeleuchtung, nach einer Originalphotographie des Herrn C. Winkel jun.). In Figur 67 ist ein Stück der Amphipleura dargestellt, welches wohl die höchste bis jetzt erzielte Löslichkeitsgrenze illustrirt; die Querstreifungen zeigen sich hier deutlich geperlt, die Ursache davon ist wahrscheinlich eine bislang nicht zur Lösung gebrachte Felderung der Diatomee, entsprechend den oben beschriebenen (Vergr. 1800, mit Zeiss' Apochromat Oelimmersion 2 mm Brennweite [num. Ap. = 1·40], und Projectionsocular No. 4, bei Sonnenbeleuchtung [Abbe's Beleuchtungsapparat; Kupferoxydammoniak-Filter], nach einer Originalphotographie des Herrn Dr. Neuhauss). —



67.

Früher wandte man neben den Diatomaceen-Testobjecten für das Abbildungsvermögen noch die Schüppchen der Schmetterlingsflügel zur Prüfung desselben an. In neuerer Zeit sind diese Objecte, die sich nur für mittlere Systeme eignen, fast ganz durch die ersten verdrängt worden. Da aber die Optiker ihren Instrumenten gewöhnlich ein solches Präparat von Hipparchia Janira beilegen, so geben wir hier noch die Abbildung eines Schüppchens dieser Art bei 300facher Vergrösserung (Figur 68). Mit Systemen von 0·7 numerischer



68.

Apertur müssen zwischen den starken Längsrippen zarte Querstreifchen erscheinen, wie sie die Abbildung zeigt.

Zum Schluss führen wir hier einige wichtige Diatomaceen-Testobjecte mit Querstreifung auf, unter Angabe der numerischen Aperturen, bei denen die Lösung der Streifung stattfinden muss (nach DIPPEL):

| Numerische Apertur. | Es muss gelöst werden |
|---|---|
| | *A. Bei centraler Beleuchtung* |
| 0·45 | Pleurosigma balticum |
| 0·55 | Grammatophora marina |
| 0·65 | Grammatophora serpentina |
| 0·75 | Nitzschia Sigma |
| 0·85 | Grammatophora oceanica |
| 1·00 | Surirella Gemma |
| | *B. Bei schiefer Beleuchtung* |
| 1·05 | Grammatophora subtilissima |
| 1·10—1·25 | Amphipleura pellucida. |

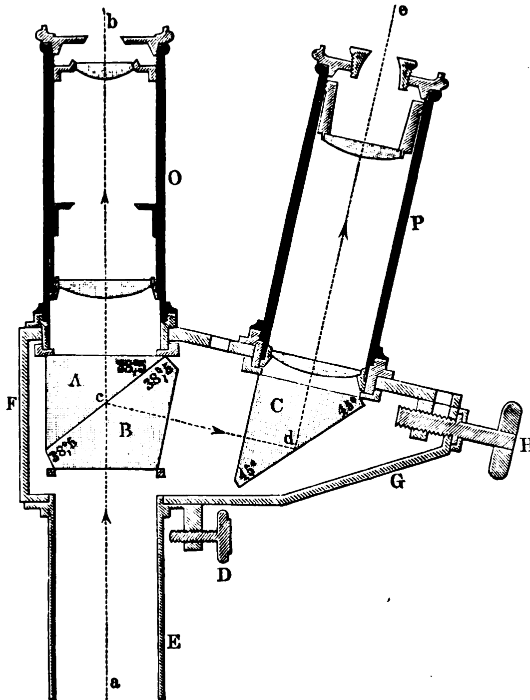
Für die ersten sechs Objecte tritt bei schiefer Beleuchtung die Lösung schon bei Aperturen ein, die um 0·05 bis 0·10 kleiner sind als die angegebenen.

## IV. Das stereoskopische Mikroskop.

In einigen Fällen, beispielsweise beim Studium von Vegetationspunkten und bei entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen, ist es hier und da wünschenswerth, dieselben unter dem Mikroskope körperlich zu sehen. Hierzu dient der stereoskopische Apparat, der dem Mikroskop an Stelle des Oculars aufgesetzt wird. In Figur 69 ist die Construction eines solchen von ABBE im Längsschnitt dargestellt.

Das Rohr *E* wird in den Tubus geschoben und durch die Schraube *D* fixirt. *E* erweitert sich oben in den allseitig geschlossenen Metallkasten *FG*, in welchem sich zunächst ein Doppelprisma aus Crownglas *AB* befindet. Dieses ist aus den beiden Einzelprismen *A* und *B* zusammengesetzt, die an ihrer gemeinsamen Fläche durch eine dünne Luftschicht getrennt sind. Gegen die Horizontale ist diese Fläche in einem

Winkel von 38° 5′ geneigt. Ein aus dem Mikroskop tretender Lichtstrahl *a*, welcher die Luftschicht in *c* trifft, erleidet daselbst eine Spaltung; etwa $^2/_3$ seines Lichtes setzt den Weg in unveränderter Richtung fort (*cb*), der Rest hingegen wird an der Luftschicht reflectirt und nimmt die Richtung *cd* an, welche unter 13° gegen die Horizontale geneigt ist. Er verlässt das Prisma unter rechtem Winkel und tritt in das Prisma *C* in derselben Weise ein, erleidet also beidemal keine Brechung. Die Hypotenuse des rechtwinkligen Prismas *C* trifft er in *d* unter 45°, er wird unter demselben Winkel reflectirt (vgl. p. 2), und tritt als *de* aus, mit *ab* einen Winkel von 13° bildend. Ueber *A* und *C* befindet sich je ein Ocular (*O*, *P*); *P* ist in einer Schlittenführung beweglich, man kann ihm durch die Schraube *H* eine der Pupillendistanz des Beobachters entsprechende Stellung geben. Hierbei verschiebt sich die Hypotenusenfläche von *C* parallel, wodurch zwar *cd* verkürzt oder verlängert wird, während sich an dem Reflexionswege des Strahls *acde* weiter nichts ändert. Wird das mikroskopische Bild zugleich durch die beiden offenen Oculare betrachtet, so dient die Vorrichtung als binoculäres Mikroskop, als Mikroskop zur Beobachtung mit beiden Augen, aber das Bild erscheint noch nicht körperlich wie im Stereoskop. Um ein stereoskopisches Bild hervorzubringen, müssen über die Oculare Blenden gesetzt werden (in der Abbildung im Durchschnitt dargestellt), welche die Hälfte der ins Auge gelangenden Strahlenkegel abschneiden. Es sind Blenden mit halbkreisförmiger Oeffnung,



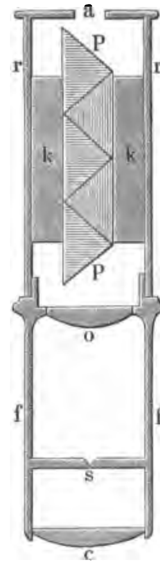
69.

sogenannte Halbdiaphragmen, deren gerade Seite genau in der optischen Achse des Oculars liegt. Für jede Tubushöhe ist die Stellung dieser Halbdiaphragmen ein- für allemal zu justiren und zwar so lange, bis das stereoskopische Bild keine parallactischen Verschiebungen gegen die Blendungskante mehr zeigt.

---

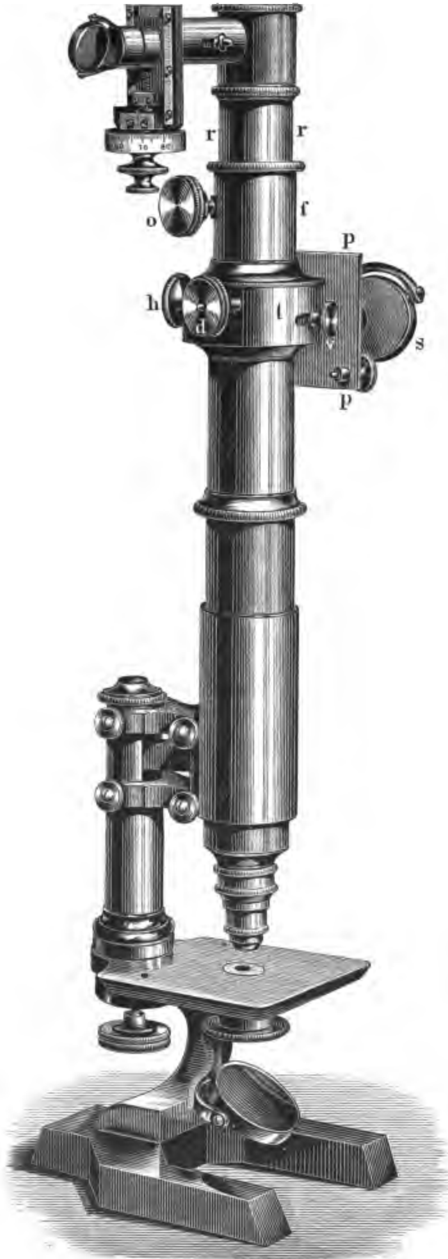
## V. Das Mikrospectroskop.

Es wurde früher erwähnt, dass ein durch ein durchsichtiges Prisma tretender Strahl weissen Tageslichtes eine Farbendispersion erleidet unter Bildung eines Spectrums (p. 5). Zugleich ersahen wir aus Figur 4, dass der Strahl hierbei ganz von seiner ursprünglichen Richtung abgelenkt wird. Es ist jedoch durch Combination mehrerer Prismen aus verschiedenen Glassorten möglich, den mittleren Brechungsindex derselben aufzuheben unter Wahrung eines genügend grossen Restes von Farbendispersion. Wenn man z. B. nach dem Vorschlage von Amici fünf Prismen von Crownglas und Flintglas combinirt, deren brechende Winkel (p. 5) 90° betragen und abwechselnd gerichtet sind, wie es in *pp* Figur 70 dargestellt ist, und zwar so, dass Crownglas- und Flintglasprismen abwechseln (die Flintglasprismen sind senkrecht, die Crownglasprismen horizontal schraffirt), so wird ein, in die eine Endfläche der Combination tretender Strahl weissen Lichtes an der anderen in Farben zerlegt austreten, aber mit dem Eintrittsstrahl dieselbe Richtung bewahren. Die Ausdehnung des Spectrums wächst mit der in der Combination enthaltenen Anzahl von Prismen. Solche Zusammenstellungen, die in sehr verschiedener Weise möglich sind, heissen Geradsichtsprismen oder Prismen zur geraden Durchsicht.



70.

Figur 70 stellt einen schematischen Längsschnitt durch einen mikroskopischen Spectralapparat dar, der, weil er am Mikroskop die Stelle des Oculars einnimmt, auch wohl Spectralocular genannt wird. Er besteht aus einem Ocular *f* mit Augenglas *o* und Collectiv *c*. An Stelle der Blende (vgl. Figur 25 auf p. 28) befindet sich ein enger Spalt *s*. Auf das Ocular lässt sich die Prismenröhre *rr* setzen, in welcher sich, durch einen Korkmantel *kk*

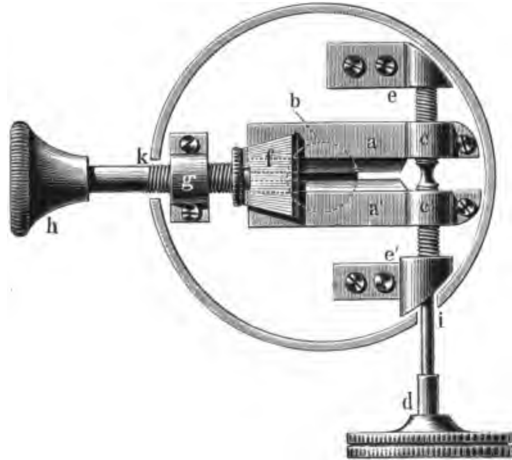


71.

gehalten, die AMICI'schen Geradsichtsprismen *pp* befinden; über ihnen ist eine runde Oeffnung *a* zum Hineinsehen. Um den Apparat zu mikroskopischen Untersuchungen tauglich zu machen, müssen noch einige Vorrichtungen angebracht werden, durch die er ziemlich complicirt wird.

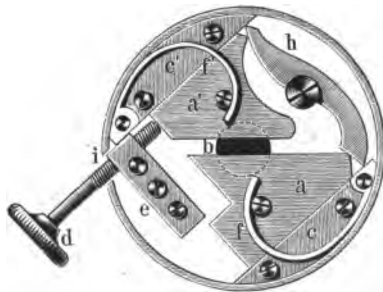
Die Form der SORBY-BROWNING'schen Construction des Mikrospectroskops, wie sie von SEIBERT geliefert wird, zeigt Figur 71 auf dem Mikroskope. Die Prismen befinden sich in der Röhre *r*; zwischen *r* und *f* ist das Ocularglas, es kann vermittels des Triebes *o* auf den Spalt scharf eingestellt werden. Der Spalt ist nebst einer anderen, unten zu besprechenden Vorrichtung in der Trommel *t* befindlich, es ist nöthig, dass man ihn verengern oder erweitern, verlängern oder verkürzen kann. Ersteres geschieht durch die Schraube *d*, letzteres durch *h*, und zwar in der in Figur 72 (Grundriss) versinnlichten Weise. Die Trommel hat eine centrale Oeffnung *b*, über dieser befinden sich, parallel neben einander liegend, die den Spalt bildenden Schneiden *aa'*, welche

in den daran befindlichen Metallklötzchen $cc'$ Schraubenmuttern haben. Durch diese gehen zwei, an der gemeinschaftlichen Achse $i$ befindliche, mittels der Führungen $ee'$ fixirte Schrauben ohne Ende. Dreht man $d$ nach der einen oder anderen Richtung, so erweitert oder verengt sich der Spalt. Die zu $i$ senkrecht stehende Schraubenachse $k$ ist in der Mutter $g$ beweglich. Das schaufelförmige Metallstück $f$ ist drehbar mit $k$ verbunden. Dreht man $h$ vor, so schiebt sich $f$ allmählig dem Mittelpunkte der Trommel näher, indem es den Spalt verkürzt.



72.

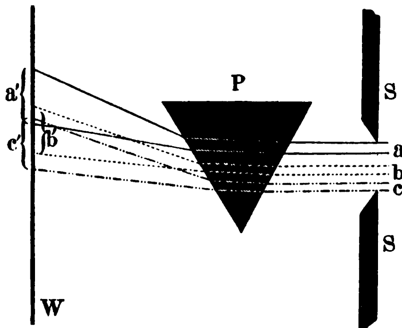
Eine zweite, häufig angewandte Spaltregulirung ist von Merz angegeben worden (Figur 73). Die beiden spaltbildenden Metallstücke $aa'$ gleiten in den Schwalbenschwanzführungen $cc'$; zwei gekrümmte Federn $ff'$ drücken gegen sie und verleihen dem Spalt $b$ das Bestreben sich zu schliessen. Beide Spalthälften stossen an den drehbaren Hebel $h$. Bei $i$ tritt die Stellschraube $d$ in die Trommel, sie hat ihre Führung in $e$. Dreht man sie vorwärts, so wirkt sie der Feder $f'$ entgegen und verschiebt die Spaltbacke $a'$ nach hinten. Diese bewegt den Hebel $h$, der mit dem anderen Ende auf $a$ drückt und, der zweiten Feder $f$ entgegenwirkend, die Backe $a$ nach vorn verschiebt. Der Spalt erweitert sich also unter Parallelverschiebung von $aa'$.



73.

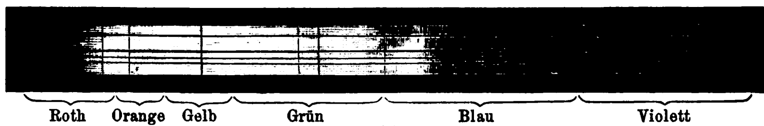
Diese complicirten Spaltbewegungen sind nothwendig, da zur Erzeugung eines farbenreinen Spectrums eine genaue Regulirung des Spaltes Vorbedingung ist. Sei $SS$ (Figur 74) der Spalt, $P$ ein

brechendes Prisma, *W* ein Schirm. Der Spalt soll so weit sein, dass er drei Strahlenbündeln *a*, *b*, *c* den Durchtritt gestattet. Jedes Strahlenbündel erzeugt auf *W* ein Spectrum: *a'*, *b'* und *c'*. Die drei Spectren fallen theilweise über einander, und die Folge davon ist, dass dieses Mischspectrum nur an den Enden rein gefärbt, roth resp. violett erscheint, während es in der Mittelparthie aus undefinirbaren Mischfarben besteht. Würde man aber *S S* einander soweit nähern, dass nur der Strahl *b* durch den Spalt treten kann, so würde nur das Spectrum *b'* erzeugt. Dieses wird zwar lichtschwächer sein als bei weitem Spalt, aber viel farbenreiner, und farbenreine Spectren sind also durch enge Spaltstellung bedingt. — Auch die Schneiden des Spaltes müssen sehr genau und geradlinig gearbeitet sein, selbst Staubtheilchen dürfen an ihnen nicht haften und sind mit einem angefeuchteten Hölzchen zu entfernen. Sie würden nämlich bei den Beobachtungen sehr störend wirken, da man sie im Spectrum als dunkle, dasselbe der Länge nach durchziehende Linien bemerkt (Figur 75).



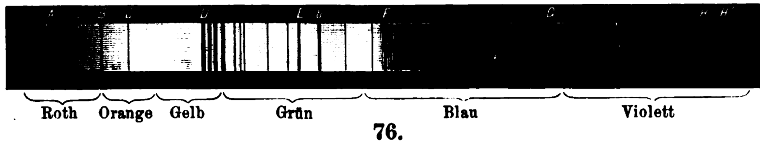
74.

Wird ein Spectrum durch eine künstliche Lichtquelle erzeugt, so zeigt es lediglich die sieben bekannten Farben (continuirliches Spectrum), wendet man dagegen Sonnenlicht zur Erzeugung desselben an, so erscheint es von dunkeln Linien und Liniensystemen in der Querrichtung durchzogen, welche als Fraunhofer'sche Linien bekannt sind. Es finden sich im Sonnenspectrum Hunderte solcher Linien; das Mikrospectroskop bringt aber nur die stärksten zur Anschauung, bei Anwendung diffusen Tageslichtes etwa die in Figur 76 wiedergegebenen. Nach den glänzenden Entdeckungen Kirchhoff's werden sie hervorgebracht durch glühende Dämpfe chemischer Elemente in der Sonnenphotosphäre, die von dem sehr hellen Sonnenkern durchstrahlt



75.

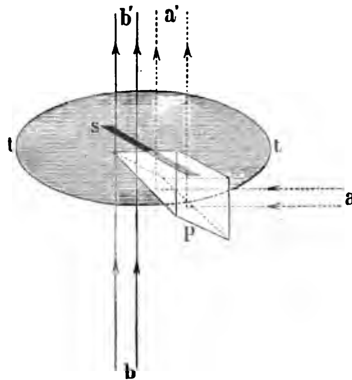
wird. Die FRAUNHOFER'schen Linien, die constant an denselben relativen Stellen des Spectrums auftreten, geben ein vortreffliches Mittel ab, die verschiedenen Regionen desselben zu bezeichnen. In Figur 76 sind die wichtigsten mit denjenigen Buchstaben bezeichnet, die man




76.

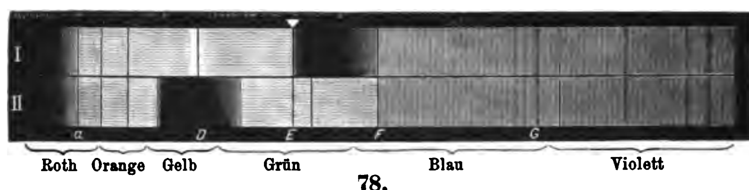
allgemein dafür eingeführt hat. Spricht man z. B. von der Länge der Lichtwelle $\lambda_D$ (vgl. p. 2), so meint man damit das Licht jener Farbe des Spectrums, wo die FRAUNHOFER'sche Linie *D* (Linie des Natriumdampfes) gelegen ist, nämlich reines Gelb.

Will man das Spectrum eines zu untersuchenden Stoffes (z. B. einer Farblösung) mit dem Spectrum eines ähnlichen, bekannten Stoffes vergleichen, so würde dies schwierig sein, wenn man zuerst ein Spectrum des ersten Körpers erzeugte, diesen entfernte, und nun den bekannten Körper zur spectroskopischen Untersuchung zöge. In dem KIRCHHOFF-schen Vergleichsprisma haben wir ein Mittel, die Spectra beider Stoffe gleichzeitig neben einander als Doppelspectrum zu entwerfen. — In Figur 77 stellt *tt* die obere Trommelplatte von unten, *s* den Spalt dar. Ein durch das Mikroskop tretendes Strahlenbündel durchsetzt den Spalt in der Richtung *bb'* und tritt bei *b'* in das brechende Prisma. Der Spalt ist nun zur Hälfte verdeckt durch ein kleines, rechtwinklig - gleichschenkliges Glasprisma *p*, dessen Hypotenusenfläche in 45° zum Spalt geneigt ist. Trifft ein zu *bb'* rechtwinkliges Strahlenbündel *a* das Prisma *p* senkrecht an der einen Kathete, so setzt es unverändert seinen Weg fort, wird an der Hypotenusenfläche durch totale Reflexion in ein *bb'* paralleles Strahlenbündel *a'* verwandelt und tritt mit *b'* parallel in das brechende Prisma. Bringt man daher in *b* den zu untersuchenden Stoff, in *a* den Vergleichskörper, so erhält man zwei durch eine dunkle Längslinie getrennte Spectren (Doppelspectrum), von dem das eine dem zu unter-




77.

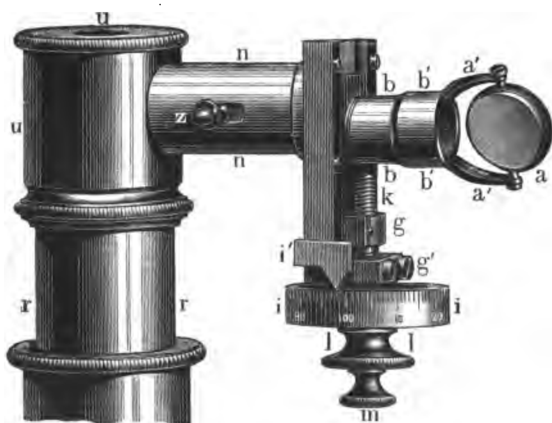
suchenden, das andere dem Vergleichskörper angehört (Figur 78; I Absorptionsspectrum des Carthamins, II des Orceïns). Beide lassen sich nun bequem gleichzeitig studiren. — In Figur 71 ist die Vergleich-Vorrichtung äusserlich theilweise zu sehen. Der Knopf *v* ist




78.

mit dem Vergleichsprisma verbunden. Dieses liegt gewöhnlich seitlich und verdeckt den Spalt nicht. Schiebt man *v* nach vorn vor, so tritt das Prisma vor den Spalt, zugleich öffnet sich eine seitliche Durchbohrung der Trommel, die in der Mitte der Platte *p* befindlich ist, und durch den Spiegel *s* wird nun das Vergleichsprisma beleuchtet. Den Vergleichskörper befestigt man in seinem Glasbehälter mit Klammern auf *p* vor deren Oeffnung.

Hat man beispielsweise das Absorptionsspectrum eines Farbstoffes zu untersuchen, wie die in Figur 78 dargestellten Pflanzenfarbstoffe, so wird es meist nöthig sein, die relative Lage und Breite der Absorptionsbänder zu bestimmen. Diesem Zwecke dient ein am Spectroskop angebrachter Messapparat.



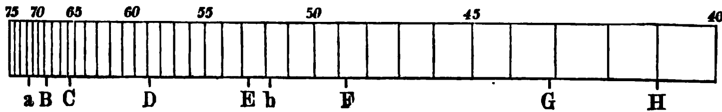

79.

Der Sorby-Browning'sche Messapparat ist folgendermaassen construirt (Figur 71, 79). Die Kapsel *u* mit Oeffnung zum Durchsehen wird der Spectralröhre *rr* aufgesetzt; letztere hat vor der oberen, im Winkel von 45° gegen die Horizontale geneigten Endfläche der Geradsichtsprismen eine seitliche Oeffnung, vor welcher die Röhre *nn* sich befindet. In *n* ist, durch die Handhabe *z* verstellbar,

eine biconvexe Linse angebracht. Diese entwirft auf der Endfläche des Prismas das reelle Bild einer kleinen, dreieckigen, centralen Oeffnung in *b*, und dieses kleine, helle Dreieck wird durch die Prismenendfläche in das Auge des Beobachters reflectirt, wenn die Oeffnung in *b* mittels des um *b' b'* und *a' a'* drehbaren Spiegelchens beleuchtet ist. Vermittels der Schlittenvorrichtung *g* und der Mikrometerschraube *k* kann durch Vordrehen an *l* das Bild dieses Dreiecks über die ganze Ausdehnung der Prismenendfläche, d. h. durch das ganze Spectrum der Länge nach continuirlich geschoben werden (vgl. Figur 78). An der Mikrometerschraube ist die Trommel *i* befestigt, welche in 100 Theile getheilt ist und auf den Index *i'* einspielt. Ausserdem ist die Höhe der Schraubenumgänge von *k* so bemessen, dass das zum Messen verwandte Dreieck in 10 Umdrehungen der Trommel das Spectrum der ganzen Länge nach durchwandert. Das Spectrum ist also in 1000 Theile getheilt. Zu Messzwecken hat man nun in eine Scala von 1000 gleichen Theilen (es genügen übrigens auch 100) zunächst die Lage der wichtigsten Fraunhofer'schen Linien mit Hilfe des Messapparates einzutragen und kann dann die Ausdehnung der zwischen den einzelnen liegenden Absorptionsbänder leicht bestimmen. Es soll z. B. die Fraunhofer'sche Linie *D* auf Strich 223, *E* auf 363 unserer Scala liegen. Ein zwischen beiden befindliches Absorptionsband ist zu messen. Man dreht das Messdreieck soweit vor, bis es auf Linie *D* einsteht. Nun lockert man die Schraube *m* Figur 79, wodurch die Trommel *i* für sich beweglich wird, stellt den Theilstrich 23 auf *i'* ein, fixirt die Trommel wieder, sieht in das Spectroskop und schraubt *l* soweit vor, bis das Dreieck mit dem der Linie *D* zunächst liegenden Ende des Absorptionsbandes zusammenfällt. Zeigt nun der Index *i'* beispielsweise auf 48, so ist der Beginn des Absorptionsbandes in der Scala auf 248 zu verzeichnen.

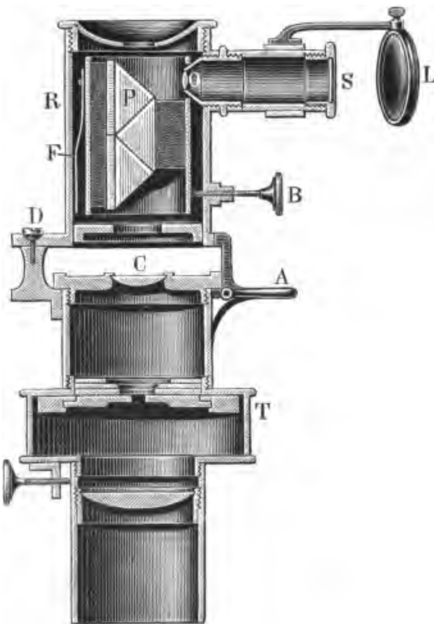
Bunsen und Kirchhoff bedienten sich bei ihren spectralanalytischen Untersuchungen einer anderen Messvorrichtung. Sie projicirten auf die Endfläche des brechenden Prismas eine photographirte Millimetertheilung, welche mit dem Spectrum gleichzeitig gesehen wird und die Lage der Fraunhofer'schen Linien, Absorptionsbänder etc. ohne weiteres abzulesen gestattet. Ångström ersetzte die Millimeterscala durch eine solche, welche in ihrer Theilung die Wellenlängen des Lichtes für jeden Theil des Spectrums angiebt (vgl. p. 2) und zwar in Hunderttausendstel Millimeter (Figur 80). Abbe hat diese Einrichtung auf das Mikrospectroskop übertragen. Bei der von ihm angegebenen, von Zeiss ausgeführten Construction (Figur 81) ist der eigentliche Spectralapparat *R* beweglich über dem Ocular *C* mit der Trommel *T*

angebracht. Nach Lösen der Sperrklinke *A* lässt er sich um *D* seitwärts drehen, eine Vorrichtung, welche gestattet, ein Object vor der




80.

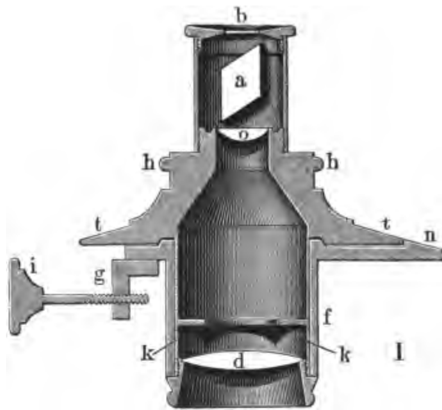
spectroskopischen Untersuchung einzustellen. Das Geradsichtsprisma *P* (von anderer Zusammensetzung wie das oben betrachtete) liegt mit seiner Endfläche dem Röhrchen *OS* gegenüber. Dieses trägt auf einem Glasplättchen *S* die Ångström'sche Scala, welche durch die Linse *O* nach Beleuchtung mittels des Spiegelchens *L* auf die Endfläche von *P* projicirt und durch diese gleichzeitig mit dem Spectrum ins Auge reflectirt wird. Die Scala ist auf die Fraunhofer'sche Linie *D* einzustellen, und zwar muss diese mit der Ziffer 589 zusammenfallen, da die Länge der Lichtwelle $\lambda_D$ = 0·00058891 ist (vgl. p. 2). Es geschieht dies durch Drehen an der Schraube *B*, welche das Geradsichtsprisma *P* unter Gegenwirkung der Feder *F* in die gewünschte Stellung zur Scala bringt. — Die Spaltregulirung ist im Principe die von Merz (Figur 73) eingeführte.

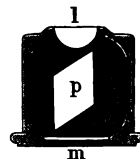



81.

# VI. Polarisationsapparate.

Wir haben früher (p. 2) erfahren, dass ein Lichtstrahl aus schwingenden Aethertheilchen gedacht werden muss, deren Schwingungen zwar in zur Richtung des Strahles senkrechten Ebenen liegen, innerhalb dieser aber jede Richtung annehmen können. Wenn ein solcher Lichtstrahl auf eine durchsichtige Platte fällt, so wird er theilweise reflectirt, theilweise gebrochen (p. 3, 4). Hierbei ist sowohl mit dem reflectirten wie mit dem gebrochenen Strahl eine Veränderung vor sich gegangen: ihre Aethertheilchen schwingen jetzt nur noch in einer Ebene, und zwar schwingen die des reflectirten Strahls rechtwinklig zur Einfallsebene, die des gebrochenen parallel zu derselben. Dieses durch seine Schwingungsverschiedenheit von dem gewöhnlichen abweichende Licht nennt man polarisirtes. Die Polarisation des Lichtes durch Spiegelung ist gewöhnlich eine nur theilweise; sie wird nur in dem Falle eine vollständige, wenn der Reflexionsstrahl mit dem gebrochenen einen rechten Winkel bildet, sie ist also von einem bestimmten Einfallswinkel (Polarisationswinkel) des Lichtstrahls abhängig.

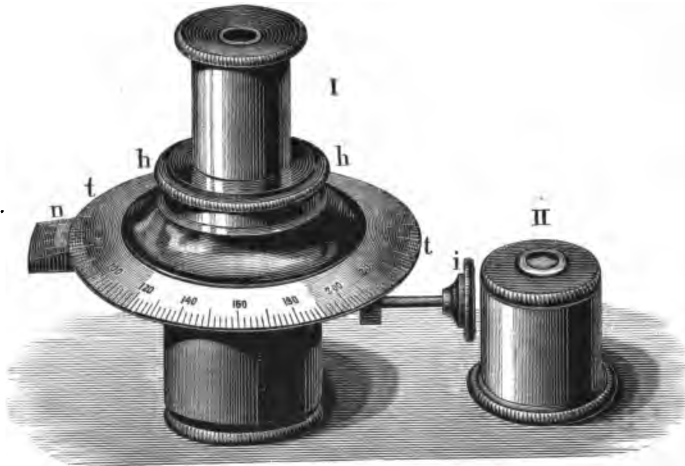



82.

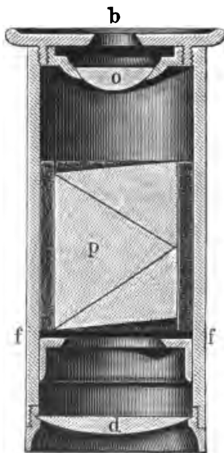
Eine Anzahl von Körpern, z. B. der krystallisirte Kalkspath, besitzt die Eigenschaft, einen Lichtstrahl, welcher den Körper in gewisser Richtung trifft, in zwei gebrochene Strahlen zu zerlegen, welche polarisirt sind und zwar rechtwinklig zu einander (Doppelbrechung). Der stärker gebrochene wird der ordentliche, der schwächer gebrochene der ausserordentliche Strahl genannt. Blendet man den durch ein für diesen Zweck eigens geschliffenes Kalkspathprisma erzeugten ordentlichen Strahl ab, so tritt an der anderen Seite des Pris-

mas nur der polarisirte ausserordentliche Strahl durch. Die Vernichtung des ordentlichen Strahls geschieht bei dem NICOL'schen Kalkspathprisma




83.

dadurch, dass man dasselbe aus zwei Keilen zusammensetzt, deren diagonale, mittels Canadabalsam verbundene Trennungsflächen denselben durch totale Reflexion ablenken. Um das Verhalten mikroskopischer Objecte im polarisirten Lichte zu studiren, bringt man ein solches polarisirendes Prisma (Nicol) unter dem Objecttische an Stelle des Blendcylinders an; ein zweites Nicol gleicher Construction wird oberhalb des Objectes angebracht. Das erste Prisma nennt man den Polarisator, das zweite den Analysator. Das Verhalten des polarisirten Strahls gegen den Analysator ist ein eigenthümliches; durch letzteren wird nämlich nur derjenige vom ersteren polarisirte Lichtstrahl durchgelassen, dessen Aetherthéilchen parallel zu den Hauptschnitten der Prismen schwingen, und dies ist der Fall, wenn beide Prismen parallel zu einander stehen. Dreht man aber das analysirende Prisma um seine Längsachse, so verdunkelt sich das Gesichtsfeld allmählig, bis es, wenn die Prismen um 90° gegen einander gedreht sind (bei gekreuzter




84.

Prismenstellung) völlig dunkel erscheint, in welchem Falle also der vom Polarisator empfangene Lichtstrahl völlig ausgelöscht wird. In dieser Stellung ist der Apparat besonders geeignet, optische Eigenthümlichkeiten der Objecte aufzudecken. Dreht man den Analysator weiter, so erhellt sich das Gesichtsfeld alllmählig wieder, bis es bei 180° vollkommen hell ist; bei 270° tritt wieder Dunkelheit, bei 360° völlige Helle ein. Die Grösse der mit dem Analysator ausgeführten Drehung lässt sich an einer an ihm befindlichen Kreistheilung ablesen.

Die von Oberhäuser für das Mikroskop eingeführte Form des Polarisationsapparates ist in Figur 82 (p. 71) im Längsschnitt abgebildet, Der Polarisator (II) wird in den Schlitten des Mikroskoptisches geschoben. Bei $p$ befindet sich in Korkfassung das polarisirende Nicol, $l$ ist eine Condensorlinse (p. 39), $m$ ein planparalleles Glasplättchen, das lediglich zum Schutze des Nicols dient. Der Analysator (I), der an Stelle des Oculars oben in den Mikroskoptubus geschoben wird, besteht aus dem Ocularglase $o$ und dem Collectivglase $d$; über $o$ befindet sich in Metallfassung und beschützt durch das Glasplättchen $b$ das analysirende Nicol $a$. Unterhalb des Ocularglases erweitert sich die Metallfassung zunächst in den Kerbrand $h$, an dem Ocular nebst Analysator gedreht werden soll, und weiter nach unten in die versilberte Kreistheilung $tt$. Die Ocularhülse $k$ steckt drehbar in einer Hülse $f$, die an der einen Seite die Noniusplatte $n$ trägt, an welcher die Drehungsgrösse von $t$ abgelesen wird, anderseits die Klemmschraube $i$, wodurch $f$, $n$ am Tubus fixirt wird, während $d$, $k$, $t$, $h$, $b$ drehbar bleibt. In Figur 83 ist derselbe Apparat, von Seibert ausgeführt, in der Ansicht dargestellt, die Buchstaben entsprechen denen in Figur 82.



85.

Das Analysator-Ocular von Abbe (Figur 84 a. p. 72) unterscheidet sich dadurch von dem soeben besprochenen, dass das analysirende Prisma *p* (ein Prazmowski'sches, bei dem die Vernichtung des ordentlichen Strahls auf andere Weise wie beim Nicol'schen bewirkt wird) sich zwischen dem Collectivglase *d* und dem Ocularglase *o* dicht über der Blende *ff* befindet. Das über dem Ocularglase *o* angebrachte Diaphragma *b* dient zur Abblendung des ordentlichen Strahls.

Den gewöhnlichen polariskopischen Studien an organisirten Objecten werden die beschriebenen Apparate vollauf genügen; wo es sich jedoch um genauere Untersuchungen handelt, z. B. um das Studium des Verhaltens von Krystallen im polarisirten Lichte, bringt man eigene Polarisationsmikroskope in Anwendung, von denen als Beispiel das Stativ IV der Firma Fues in Figur 85 ($^2/_3$ nat. Gr.) dargestellt ist. Dasselbe besitzt zunächst eine Mikrometerschraube mit getheiltem Kopf *F*; sodann ist der durch Zahn und Trieb bewegliche Tubus unten mit den Stellschrauben *GG* versehen, welche bezwecken, ihn bezüglich des polarisirenden Prismas genau zu centriren. Der Objecttisch ist drehbar und mit Kreistheilung *E* ausgerüstet; der unter ihm angebrachte Polarisator *P* besitzt gleichfalls eine, die Rotationsgrösse anzeigende Theilung. Der Analysator *A* trägt bei *B* und der Tubus bei *C* je einen Schlitz, welche zum Einschieben hier nicht näher zu besprechender, optischer Nebenapparate dienen, zu deren Einstellung überdies die Triebschraube *D* vorhanden ist.

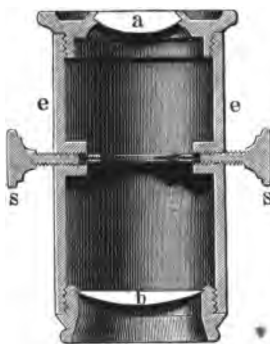
---

## VII. Mikrometer.

Das Mikrometer ist eine Vorrichtung, mit welcher man die wahre Grösse eines mikroskopischen Objectes bestimmen kann. Mikrometer, welche an Stelle des Objectes auf dem Objecttische angebracht werden, nennt man Objectivmikrometer, solche, mit welchen innerhalb des Oculars das Collectivbild gemessen wird, heissen Ocularmikrometer. Die Messung geschieht entweder mittels einer feingetheilten Diamantscala auf Glas, oder durch Vordrehen einer Schraube von bekannter Umgangshöhe, deren Trommel in 100 Theile getheilt ist. Erstere heissen Glasmikrometer, letztere Schraubenmikrometer.

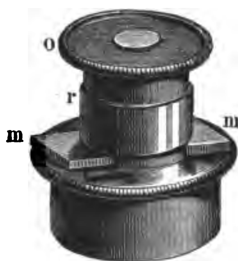
Das Objectivglasmikrometer ist ein Glasplättchen, welches eine sehr feine Diamanttheilung trägt, nämlich 1 mm in 100 Theile.

Man verwendet es mit dem Spitzenocular. Dieses ist ein Ocular (Figur 86), in dem sich an der Blende, also da, wo das reelle Bild entsteht, zwei durch Schrauben *ss* gegen einander verstellbare Nadelspitzen befinden. Will man die Grösse eines Objectes bestimmen, so schiebt man es in die Mitte des Gesichtsfeldes, dreht im Ocular die Schrauben so weit vor, bis die Nadelspitzen die gegenüberliegenden Grenzen der zu messenden Grösse berühren, entfernt das Object, legt an seine Stelle das Mikrometer und kann nun auf dessen Scala durch den Abstand der Nadelspitzen die wahre Grösse des Objectes direct ablesen.



86.

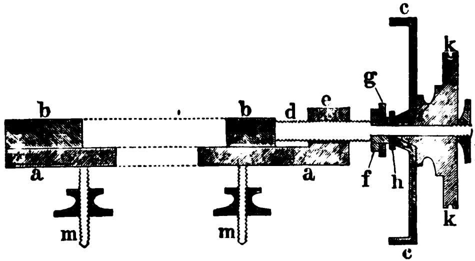
Weit bequemer ist das Ocularglasmikrometer, welches an Stelle der Blende ins Ocular gelegt, die Grösse des virtuellen Bildes direct misst. Es ist ein rundes Glasplättchen in Fassung, welches eine Diamantscala, einige Millimeter in je 10 oder 20 Theile getheilt, enthält. Bei den Mikroskopen von SEIBERT ist es in rechteckiger Metallfassung (*mm* Figur 87) und wird dem Ocular durch einen seitlichen Schlitz, der sonst durch den Ring *r* verschlossen ist, eingeschoben. Bei allen Ocularen mit Mikrometern muss das Augenglas *o* verstellbar sein, um die Mikrometerscala für die verschiedenen Augen einzustellen. Zu dem Behuf legt man das Mikrometer mit der Scala nach unten in das Ocular und verschiebt das Augenglas so lange, bis die Theilung in haarscharfen, schwarzen Linien erscheint. Ehe man mit dem Ocularmikrometer Messungen vornehmen kann, muss man für jedes Objectivsystem durch ein Objectivglasmikrometer die entsprechenden Werthe der Ocularmikrometertheilung bestimmen. Das führen gewöhnlich die Optiker aus und geben ihren Mikrometern eine Tabelle „Mikrometerwerthe“ bei.



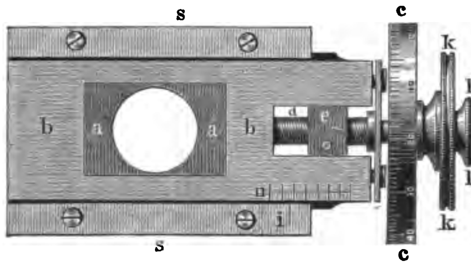
87.

Wenn z. B. für ein Objectivsystem vom Optiker der Mikrometerwerth 3·63 angegeben ist und das zu messende Object 13 Theilstriche unseres Ocularmikrometers deckt, so hat man 13 mit 3·63 zu multipliciren und erhält in dem Producte 47·2 die Grösse des Objects in Tausendstel Millimeter; das Object ist also 0·047 mm lang. Bei mikrosko-

pischen Messungen nimmt man nämlich als Einheit das Eintausendstel Millimeter (0·001 mm) an und nennt diese Einheit ein **Mikromillimeter** oder ein **Mikron**. Das Zeichen dafür ist ein kleines griechisches μ. Also das obige Object misst 47 μ = 0·047 mm [1].




88.




89.

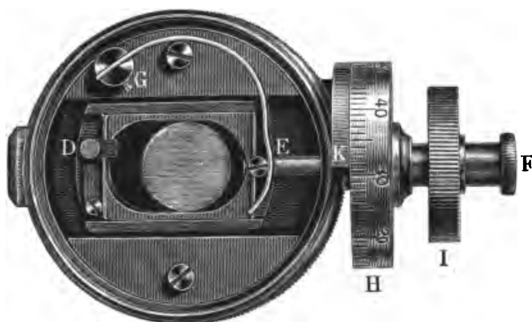
Viel complicirter und theurer als die Glasmikrometer sind die Schraubenmikrometer, die man, entsprechend den ersteren, auch sowohl auf dem Objecttisch wie am Ocular anbringen kann.

Das **Objectivschraubenmikrometer** (Figur 88 Längsschnitt, Figur 89 Ansicht; ausgeführt von Schieck) besteht aus der Grundplatte *a*, die mit den Schrauben *mm* dem Objecttisch fest aufgeschraubt wird, und der auf ihr in Schwalbenschwanzführung *ss* gleitenden Platte *bb*. In den rechteckigen Ausschnitt von *b* über die runde Oeffnung von *a* legt man ein Glasplättchen mit dem zu messenden Objecte. Die Mikrometerschraube *d* ist sehr sorgfältig geschnitten; ihre Umgänge sind von derselben bekannten Höhe. Ihre Trommel *c* ist in 100 gleiche Theile getheilt; ein Intervall des Index *n*, *i* entspricht einer Schraubenumdrehung. Vermittels *k* und *l* kann man die Trommel lösen (vgl. p. 69) und bei Beginn der Messung auf Null einstellen. Um mit diesem Mikrometer

[1]) Diese Bezeichnung ist jetzt allgemein angenommen, nur die Engländer rechnen gewöhnlich noch nach Bruchtheilen des Englischen Zolles (1 μ ungefähr = $^1/_{25000}$ engl. Zoll). In älteren Werken findet man häufig mikrometrische Werthe nach Pariser etc. Linien; zur Umrechnung dieser Werthe in metrische muss man wissen, dass 1 mm ist = 0·4433 Pariser Linie, = 0·4724 Englische Linie, = 0·4587 Rheinische Linie, = 0·4555 Wiener Linie (Pariser Linie = 2·2558 mm, Englische Linie = 2·1166 mm, Rheinische Linie = 2·1802 mm, Wiener Linie = 2·1952 mm).

messen zu können, muss in der Blende des Oculars ein Fadenkreuz von Spinnegewebfäden angebracht sein. Man stellt einen Rand des zu messenden Objectes auf einen solchen Kreuzfaden ein, bringt durch Lösen von *l* und *k* die Trommel auf den Nullpunkt, fixirt sie wieder und dreht die Schraube *d* so lange vor, bis der andere Objectrand den Kreuzfaden deckt. Aus der Ablesung von *i* und *c* ergiebt sich die Grösse des Objectes.

Ganz entsprechend ist das Ocularschraubenmikrometer eingerichtet (Figur 90, innere Ansicht, ausgeführt von Winkel). An der Stelle der Blende erweitert sich das Ocular in eine Trommel. In dieser ist durch die Mikrometerschraube *EF*, deren todter Gang durch die Feder *G* paralysirt wird, der Schlitten *D* beweglich. In seinem Ausschnitte liegt ein Glasplättchen, welches eine Kreuzmarke oder eine ganze Ocularmikrometertheilung trägt. Die Trommel *H* ist wie vorhin in 100 Theile getheilt. Man stellt die Kreuzmarke oder einen Strich des Mikrometers auf einen Rand des zu messenden Objects ein, und führt diese Marke bis zum anderen Rande desselben. Die Grösse der vollführten Drehung liest man auf *K* ab; die den Theilstrichen auf *K* entsprechende wahre Grösse muss für jedes System mit dem Objectivglasmikrometer bestimmt worden sein.



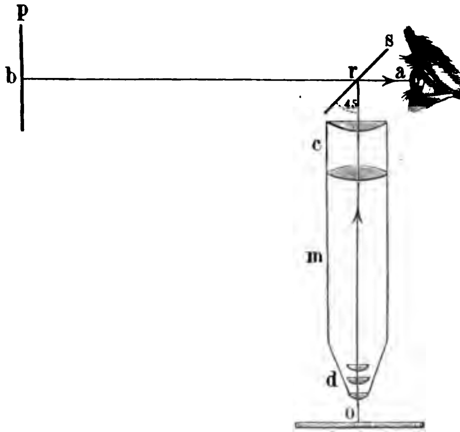

90.

---

# VIII. Vorrichtungen zum Zeichnen mikroskopischer Bilder.

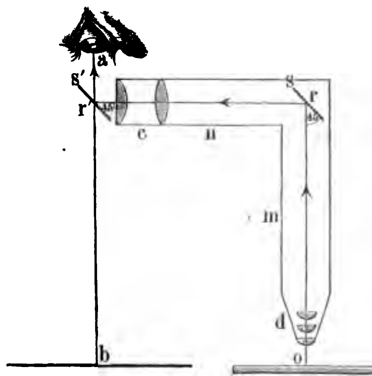
Um das Entwerfen von Zeichnungen mikroskopischer Bilder auch dem Ungeübten zu erleichtern, hat man Apparate ersonnen, durch welche vermittels einmalig oder doppelt reflectirter Lichtstrahlen das Bild des zeichnenden Stiftes und das mikroskopische Bild gemeinschaftlich in das beobachtende Auge gelangen, so dass alsdann die Wiedergabe des

Bildes durch einfaches Umziehen der Conturen stattfinden kann. Wie diese Vorrichtungen im Principe eingerichtet sind, wird uns nach dem auf p. 2 ff. Gesagten durch einige Schemata leicht klar werden.



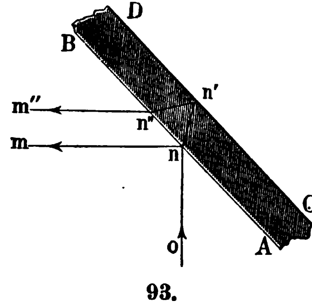
91.

Bringen wir über das Ocular *c* eines Mikroskopes *m* (Figur 91) ein durchsichtiges Glasplättchen *s*, etwa ein Deckglas, in einer Neigung von 45° an, und halten wir unser Auge in *a*, so erscheint uns das Bild des Objectes *o* als in *b* liegend, da die von *o* durch *dc* tretenden Lichtstrahlen in *r* unter 45° reflectirt, nunmehr in der Richtung *ra* ins Auge gelangen. Befestigen wir in *b* eine Papierfläche *p*, so können wir, da das Glasplättchen *s* durchsichtig ist, auf *p* mit dem Bleistift die Umrisse des Bildes nachzeichnen, gerade als ob es bereits auf *p* gezeichnet wäre. Geben wir unserer Mikroskopröhre unterhalb des Ocidares *c* (Figur 92) ein rechtwinklig gebogenes Knie, in welchem wir unter 45° ein Spiegelchen *s* anbringen und schalten wir vor dem Ocular *c* wie oben ein Deckglas *s'* unter 45° ein, so ist es klar, dass das Bild von *o* auf dem Reflexionswege *orr'a* ins Auge gelangt und gleichzeitig mit der auf horizontaler Unterlage ruhenden Zeichenfläche *b* gesehen wird. Die reflectirenden Spiegelchen müssen sehr dünn sein, und zwar aus folgendem Grunde. Wenn *ABCD* (Figur 93) der Durchschnitt eines derartigen dicken Spiegels wäre, so würde ein auf ihn unter 45° treffender Lichtstrahl *on* theilweise reflectirt und darauf in der Richtung *nm* seinen Weg fortsetzen. Ein anderer Theil des Strahles dringt unter Brechung (p. 4) in den Spiegelkörper (*nn'*), erfährt an der Rückwand eine Reflexion *n'n''* und tritt als Strahl



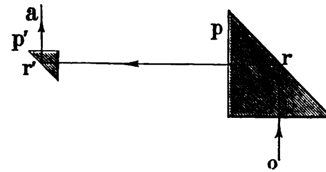
92.

$n''m''$ aus dem Spiegel wieder hervor. Der Strahl *on* wird durch den Spiegel in zwei parallele zerlegt, es entstehen also von dem Objecte durch den Spiegel zwei Bilder. Liegen dieselben (bei sehr dünnen Spiegeln) dicht neben einander, so beeinträchtigen sie die Deutlichkeit nicht, was hingegen der Fall ist, wenn der Spiegel eine gewisse Dicke überschreitet. Aus diesem Grunde wendet man an Stelle der Spiegel häufig reflectirende Prismen von rechtwinklig - gleichschenkligem Querschnitt an. Figur 94 stellt zwei solche, die beiden Spiegel in Figur 93 ersetzende Prismen dar. Der Strahl *o* trifft die eine Kathete von *p* unter 90°, geht also ungebrochen hindurch, erleidet an der Hypotenuse in *r* eine totale Reflexion unter 45°, tritt in der Richtung *rr'* in das Prisma *p'* und verändert hier auf gleiche Weise wie in *p* seine Richtung in *r'a*. —



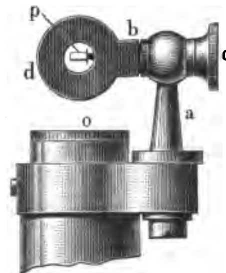
93.

Wir betrachten nun einige der gebräuchlichsten Formen des mikroskopischen Zeichenapparates oder der Camera lucida, wie er meist genannt wird.



94.

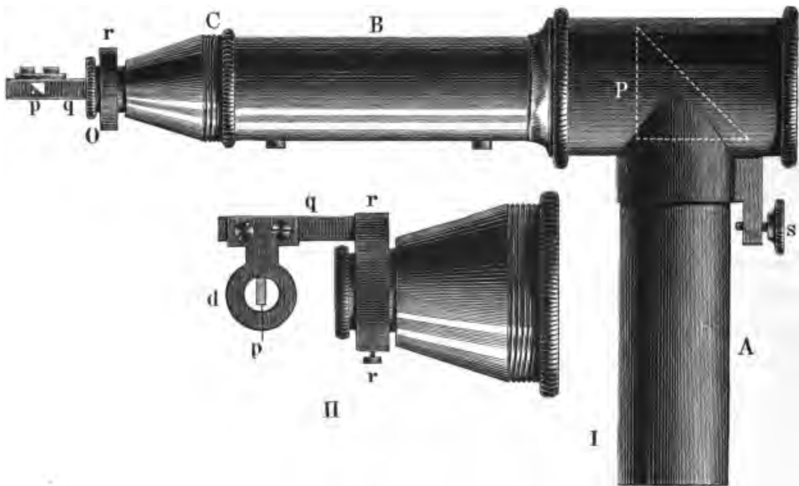
Das WINKEL'sche Zeichenprisma (Figur 95, nat. Gr.) besteht aus einem kleinen Glasprisma *p* von ca. 2·5 mm Länge und 2 mm langer Hypotenuse. Dasselbe ist an einem, am Ocular befindlichen Winkelarme *ab* befestigt, vermittels dessen es in Centimeterhöhe über dem Augenglase *o* centrisch angebracht ist. Es ist von einem geschwärzten Metallringe *d* umgeben, durch den Schraubenkopf *c* ist es um seine Längsachse drehbar und kann ausserdem ganz zur Seite geklappt werden. Zur Benutzung sieht man zuerst in das Ocular, um das zu zeichnende Präparat scharf einzustellen, schiebt dann das Prisma soweit vor, bis eine seitlich angebrachte Einschnappvorrichtung die centrale Stellung angiebt, und dreht, indem man durch *d* sieht, an *c* so lange, bis auf einem vor dem Mikroskop in geneigter Richtung aufgestelltem Zeichenbrett (welches dem Prisma auf Wunsch beigegeben



95.

wird), das kreisförmige Gesichtsfeld mit dem Bilde klar erscheint. Auf dem Brette ist das Zeichenpapier festgeheftet; die Spitze des zeichnenden Bleistiftes muss deutlich zu sehen sein; ist das nicht der Fall, so ist das Bild zu lichtstark und muss auf geeignete Weise verdunkelt werden.

Die Camera lucida von OBERHÄUSER (Figur 96) besitzt eine dem Tubus aufzusetzende und durch die Schraube *s* fixirbare Röhre *A*, zu welcher die Röhre *B* rechtwinklig liegt. Bei *P* befindet sich ein total reflectirendes Prisma, bei *O C* das Ocular und bei *p* ein zweites, kleines, durch den Ring *q* geschütztes Prisma (in II von oben gesehen).



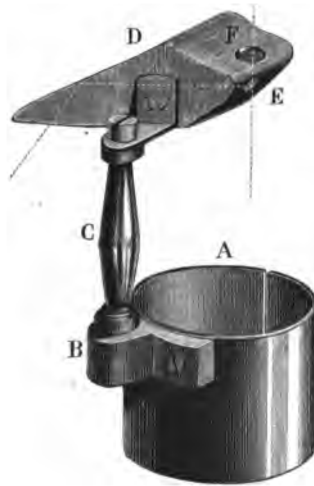

96.

Die Wirkung dieses Apparates ist aus Figur 94 ohne weiteres verständlich. Das mikroskopische Bild gelangt durch doppelte Reflexion ins Auge und wird gleichzeitig mit dem Zeichenstift gesehen, wenn man durch den geschwärzten Ring *d* senkrecht nach unten sieht.

Bei den beiden beschriebenen Zeichenapparaten wurde die Zeichenfläche direct gesehen und das mikroskopische Bild durch Spiegelung ins Auge geführt. Wir betrachten nun zwei weitere, bei denen die Zeichenfläche durch Spiegelung in das direct gesehene mikroskopische Bild projicirt wird.

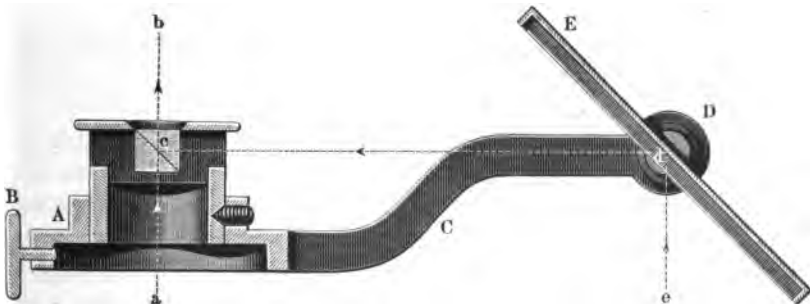
Der Doppelspiegel von SEIBERT (Figur 97) ist an dem, dem Tubus aufzusteckenden Ringe *A* und *B* drehbar auf dem Träger *C* befestigt. Bei *D* und *E* sind zwei mit Folie belegte Spiegel angebracht. *E* hat unterhalb *F* eine Oeffnung zum Durchsehen. Befindet

sich *F* mitten über dem Ocular, so sieht man das mikroskopische Bild direct, und das Bild einer seitlich auf dem Tische geneigt liegenden Zeichenfläche gelangt durch doppelte Reflexion gleichzeitig in das Auge. Der Weg der reflectirten Lichtstrahlen ist in der Abbildung durch punktirte Linien angegeben.



97.

Die Camera lucida von Abbe (Figur 98) besteht aus einer Metallkappe *A*, welche mit der Schraube *B* dem Ocularkopf aufgeklemmt wird und durch zwei weitere Schrauben centrirt werden kann. In der optischen Achse bei *c* befindet sich ein Glaswürfel, der aus zwei rechtwinklig-gleichseitigen Prismen zusammengekittet ist, wie es die Figur zeigt. Die Hypotenusenfläche des einen Prismas ist versilbert bis auf die Mitte, wo eine kreisrunde Oeffnung unversilbert, also durchsichtig geblieben ist. Durch diese kann daher das die Lichtstrahlen *a b* aussendende mikroskopische Bild gesehen werden. An dem Arme *C* und um *D* drehbar ist der Spiegel *E* angebracht. Legt man auf den Tisch neben das Mikroskop eine Zeichenfläche, so wird man nach einiger Drehung des Spiegels das



98.

Bild derselben gleichzeitig mit dem mikroskopischen Bilde sehen, da die von ihr ausgehenden Lichtstrahlen auf dem Reflexionswege *e d c b* ins Auge gelangen.

Bei der Anwendung des Zeichenapparates hat man folgende zwei Bedingungen zu erfüllen. Erstlich müssen das zu zeichnende Bild und die zeichnende Bleistiftspitze dem Auge gleich deutlich erscheinen. Das erreicht man durch Regulirung der Lichtzufuhr. Erscheint die Bleistiftspitze zu undeutlich, so ist das mikroskopische Bild zu lichtstark, und das Licht muss etwa durch Anwendung des Planspiegels, oder einer blauen Blende (p. 43), oder durch beides, oder sonstwie abgeblendet werden. Erscheint dagegen die Bleistiftspitze im Vergleich zum Bilde zu scharf, so muss die Zeichenfläche stärker beschattet oder das Bild stärker beleuchtet werden. Beim Abbe'scheu Zeichenapparate lassen sich zu diesem Zwecke auch zwischen Spiegel und Prisma sogenannte Rauchglasplättchen zur Lichtregulirung einschalten. — Zweitens ist beim Gebrauch einer Camera lucida noch Folgendes zu beachten. Will man die Zeichnung in einer der Vergrösserung entsprechenden Grösse erhalten, so muss der Abstand der Zeichenfläche von der dicht über dem Ocular befindlichen Reflexionsvorrichtung 250 mm (normale Sehweite) betragen. Beim Abbe'schen Zeichenapparate (Figur 98) muss z. B. der Reflexionsweg $edc = 250$ mm lang sein. Da $c$ und $d$ in diesem Falle 70 mm von einander entfernt sind, so muss man die Zeichenfläche 180 mm unter $d$ anbringen.

Will man mit der Camera lucida eine Zeichnung herstellen, so wird man zunächst die zu zeichnende Stelle des Objectes in die Mitte des Gesichtsfeldes bringen und den Objectträger mit den Tischklammern festlegen, damit das Bild sich nicht verschieben kann. Auch das Papier, auf dem man zeichnen will, heftet man am besten auf ein festliegendes Zeichenbrett. Ein wenig rauhes Zeichenpapier, vor allem die Watman-Papiere sind zu empfehlen; es lassen sich auch die besten Sorten der neuerlich als Normalpapiere in den Handel gebrachten Schreibpapiere mit Vortheil anwenden. Zunächst zeichnet man mit einem ziemlich harten, spitzen Faber'schen Bleistifte die Hauptconturen von Gewebscomplexen, Zellgruppen, einzelnen Zellen nach und giebt die Lage von Zellkernen, Zelleinschlüssen und dergl. vorerst durch einfache Umrisse an, Alles mit ganz zarten Strichen. Dann entfernt man am besten die Camera zeitweilig und zieht diese zarten, bisweilen rauhen Umrisse mit einem weicheren Stifte in stärkeren, glatten Linien nach, indem man hier und da ins Mikroskop sieht. Sehr zarte Structuren, z. B. Granulirungen in Zellkernen, Körnelung von protoplasmatischen Substanzen lassen sich überhaupt nicht gut mit der Camera ausführen; man trägt sie besser mit freiem Auge in die mit der Camera skizzirten Umrisse ein. Dabei bedient man sich sehr weicher Bleistifte, wo wolkige Par-

thien darzustellen sind, mit Vortheil und Zeitgewinn auch des Lederwischers. Tingirte Präparate können natürlich auch in Farben wiedergegeben werden; doch geschieht die Colorirung der Zeichnung am besten ohne Camera. Die Aquarellfarben in Tuben, zumal die von Schönfeld in Düsseldorf, mit feinen, runden Marderpinselchen aufgetragen, sind im Gebrauch am bequemsten. Sollen die fertigen Zeichnungen recht haltbar gemacht werden, so fixirt man sie, indem man mit einem Zerstäubungsapparate käufliches Siccativ oder eine schwache Lösung von gebleichtem Schellack in Alkohol darüber bläst. Sie sind dann unverwischbar.

Da eine Zeichnung nie die Copie eines mikroskopischen Präparates, sondern ein Beleg für eine gemachte Beobachtung sein soll, so wird man in derselben nur jene Präparatstellen zur Anschauung bringen, die im gegebenen Falle von Wichtigkeit sind, und auch in diesen wird man vielleicht unnütze Nebendinge nicht mitzeichnen, obgleich sie im Präparate vorhanden sind. Ja, es können auch Fälle eintreten, wo man mehrere, räumlich getrennte Präparatstellen zu einer zusammenhängenden Zeichnung combinirt, oder wo man in einer Zeichnung mehrere über einander liegende Einstellungsebenen zur Darstellung bringen muss. Wann und wo dieses zu geschehen hat, dafür lassen sich jedoch keine allgemeine Regeln geben, und es hat hier die Uebung zu lehren, den richtigen Weg zu finden.

---

# IX. Apparate zum Photographiren mikroskopischer Objecte.

Nachdem seit Erfindung der Trockenplatten (Bromsilber-Gelatine-Platten) die Photographie ohne irgend welche Vorübungen von Jedermann leicht betrieben werden kann, ist auch die photographische Wiedergabe mikroskopischer Bilder (die Mikrophotographie) sehr in Aufnahme gekommen. Wenn nun auch aus dem vorhin Gesagten hervorgeht, dass selbst das beste Photogramm häufig eine Zeichnung nie und nimmer ersetzen kann, so giebt es doch eine Reihe von mikroskopischen Objecten, die recht wohl für die Photographie geeignet sind, andere, die sich nur mittels der Photographie naturgetreu wiedergeben lassen (z. B. Figur 62 auf p. 59). Es ist hier nicht der Ort, die mikrophotographischen Methoden irgendwie erschöpfend zu besprechen; es

6*

soll — unter Beschreibung von zwei ganz einfachen Apparaten — nur in grossen Umrissen dargelegt werden, wie man verfährt[1].

Das Hauptrequisit des mikrophotographischen Apparates ist die photographische Kammer (Camera obscura), die speciell dem Mikroskope angepasst ist. Ein Objectiv besitzt sie nicht, sondern das Mikroskop vertritt die Stelle desselben. An der Rückwand der Kammer befindet sich eine Glasplatte, auf die das Bild projicirt wird; an ihre Stelle kann man eine Kassette, die die lichtempfindliche Platte enthält, bringen. Oeffnet man dann den Schieber derselben, so fällt das Bild auf die Trockenplatte.



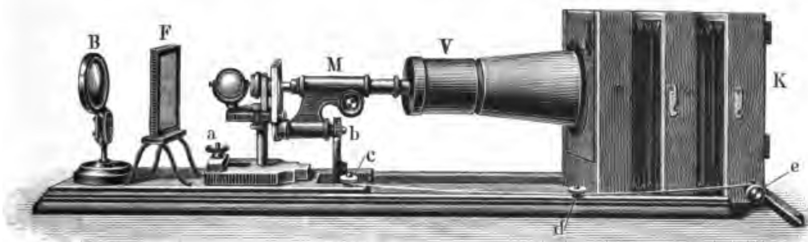
99.

Figur 99 stellt die kleine photographische Kammer von H. Moeller dar. Unten besitzt sie eine runde, mit Diaphragmenplatte versehene Oeffnung, mit welcher sie dem Ocular des aufrecht stehenden Mikroskopes aufgesetzt wird; das Diaphragma bewerkstelligt den lichtdichten Verschluss. Oben links sind die beiden Kassettenschieber ausgezogen, dementsprechend ist ein Gegengewicht auf die andere Seite gestellt. Man sieht

[1]) Specielle Unterweisung erhält man aus folgenden Werken: Jeserich, P., Die Mikrophotographie auf Bromsilbergelatine etc. Berlin 1888. — Neuhauss, R., Anleitung zur Mikrophotographie für Aerzte, Botaniker etc. Berlin 1888. — Zeiss, R., Beschreibung und Gebrauchsanweisung des neuen Apparates für Mikrophotographie (Jena 1888).

**ausserdem eine Lupe, welche dazu dient, das auf eine in die Kassette gelegte Glasplatte geworfene Bild genau einzustellen.**

**Die photographische Kammer von Neuhauss (Figur 100) setzt** den Besitz eines umlegbaren Mikroskopes voraus. **Dieselbe** (*K*) **lässt** sich durch einen Doppelbalg bis auf 1·8 Meter anziehen; durch das Verlängerungsstück *V* wird die luftdichte Verbindung mit dem Mikroskop *M* hergestellt, welches durch den Klotz *a* fest auf der Unterlage ruht. Die Mikrometerschraube *b* kann durch eine Fadenübertragung *cde* von der Rückwand der Kammer aus behufs Einstellung des Bildes bewegt werden. *F* ist ein Lichtfilter, *B* eine Beleuchtungslinse. Zur Beleuchtung lässt sich z. B. verwenden Sonnenlicht, Petroleumlicht, Auer'sches Glühlicht (p. 43). Das Sonnenlicht lässt man vermittels eines Spiegels durch eine runde Oeffnung im Fensterladen eines ver-




100.

dunkelten Zimmers fallen und projicirt durch Verschieben von *B* ein Sonnenbild in das Object selbst (bei künstlichem Lichte das Bild der Flamme). Es ist nun das Object selbstleuchtend. Bei starken Vergrösserungen ist zur Beleuchtung noch der Abbe'sche Apparat (p. 40) anzuwenden, oder noch besser ein an seine Stelle gebrachtes Objectivsystem, das die Frontlinse (p. 20) dem Objecte zukehrt. Dann geschieht die Einstellung des Lichtbildes auf das Object auf folgende Weise. Eine in der Nähe von *F* senkrecht aufgestellte, grobkörnige mattgeschliffene Glasplatte wird so lange verschoben, bis ihre Körnung wahrgenommen werden kann, wenn man in das mit Objectiv und Ocular versehene Mikroskop blickt. Alsdann verschiebt man *B*, bis auf der Glasplatte das umgekehrte Bild der Lichtquelle erscheint; man entfernt die matte Platte und hat nun das Lichtbildchen im Object gelegen. Darauf wird das Lichtfilter *F* eingeschaltet. Es ist eine 1 bis 2 cm dicke Glascuvette, welche entweder mit Kupferoxydammoniaklösung (1 Th. gepulvertes Kupfervitriol gelöst in 4 Th. Ammoniak von 10

Procent), oder nach Zettnow mit einer Lösung von 175 g Kupfervitriol, 17 g Kaliumpyrochromat und 2 Tropfen Schwefelsäure in 500 cc Wasser gefüllt ist. Letztere wird zumal bei Verwendung von Erythrosinplatten und in verdünntem Zustande bei Benutzung von Petroleumlicht genommen. Das Lichtfilter hat folgenden Zweck. Erstlich werden durch dasselbe die Wärmestrahlen zurückgehalten, welche bei Sonnenbeleuchtung dem Object und Objectiv perniciös werden könnten. Sodann lassen jene Flüssigkeiten nur bestimmte Spectralfarben durch. Würde man mit weissem Sonnenlicht arbeiten, welches Strahlen sämmtlicher Wellenlängen (p. 2) enthält, so würde das durch das Auge scharf eingestellte Bild von der lichtempfindlichen Platte nicht scharf wiedergegeben werden, da auf ersteres rothe und gelbe Strahlen, auf letztere violette Strahlen am wirksamsten sind, und da die gewöhnlichen mikroskopischen Objective eine sogenannte Focusdifferenz aufweisen, d. h. es fallen bei ihnen optischer und chemischer Brennpunkt nicht zusammen. —

Die Erzeugung des Bildes in der Kammer geschieht entweder mit gewöhnlichem Ocular, mit Projectionsocular oder ohne jedes Ocular. Nachdem das Bild auf der Glasplatte in der Kammer scharf eingestellt ist, wird diese entfernt, die Kassette mit der Trockenplatte eingeschoben und durch Ausziehen des Schiebers exponirt. Die Expositionszeit richtet sich nach der Helligkeit des Bildes; sie beträgt bei Sonnenbeleuchtung einige Secunden bis 10 Minuten, bei Petroleumbeleuchtung bisweilen mehrere Stunden.

Ist die Exposition beendet, so wird das Bild entwickelt. Dazu stellt man drei Lösungen her:

| | | |
|---|---|---|
| A. | Kaliumoxalat, neutral | 30 g |
| | Destillirtes Wasser | 90 cc |
| B. | Eisenvitriol | 10 g |
| | Destillirtes Wasser | 30 cc |
| | Schwefelsäure | 1 Tropfen. |
| C. | Bromkalium | 1 g |
| | Destillirtes Wasser | 10 cc |

Man mischt 8 Th. A mit 1 Th. B und 2 Tropfen C, im ganzen etwa 100 cc. In flacher Schale bewegt man in dieser Flüssigkeit die Platte, das Bild nach oben, eine bis anderthalb Minute lang. Beginnen Einzelheiten zu erscheinen, so wird noch 1 Th. B zugesetzt und die Platte so lange darin belassen, bis das Bild auf der Rückseite zu sehen ist. Darauf wird die Platte in einer 12procentigen Lösung von unterschwefligsaurem Natrium fixirt, bis alles weisse Bromsilber ver-

schwunden ist. Endlich wässert man sie mindestens 6 Stunden lang in einem grossen Wasserbehälter, dessen Wasser mehrmals zu erneuern ist. Damit ist das Negativ fertig. Die Herstellung von Positivcopien desselben auf Papier übernimmt jeder Photograph. —

Für gewisse Zwecke, z. B. für die Reproduction von Schnittserien empfiehlt es sich bisweilen, Objecte in schwacher, etwa 10- bis 20facher Linearvergrösserung zu photographiren. Man kann dann nach dem Vorgange von His die photograhische Kammer ganz entbehren, indem man das schwach vergrösserte Bild vermittels eines Sonnenmikroskopes, eines Scioptikons oder eines anderen Projectionsapparates an eine Wand wirft, auf welcher man mit Heftzwecken einen Bogen des Eastman'schen lichtempfindlichen Bromsilberpapieres befestigt hat, und auf diesen 6 bis 8 Minuten exponirt. Man erhält dadurch nach Fixiren im Bade von unterschwefligsaurem Natrium und sorgfältigem, langdauernden Auswaschen ein völlig haltbares Negativ, von welchem sich auch Positivcopien herstellen lassen.

---

ZWEITER ABSCHNITT.

# Das mikroskopische Präparat.

---

## I. Einleitung.

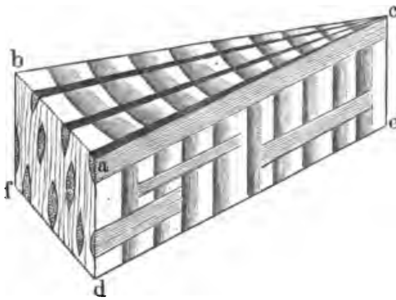
Bei Betrachtung der mannigfachen, am Mikroskop angebrachten Beleuchtungsvorrichtungen (p. 38) wurde angeführt, dass der zu beobachtende Gegenstand vermittels dieser Vorrichtungen durchleuchtet werde, und dass er erst nach der Durchleuchtung gesehen werden könne. Schon aus der Thatsache, dass sich der Beleuchtungsspiegel unter dem Mikroskoptische, der optische Apparat aber über demselben befindet, geht hervor, dass nur solche Gegenstände im Mikroskop gesehen werden können, die durchsichtig, zum mindesten stark durchscheinend sind. Es ist aber bekannt, dass die meisten Pflanzen diese Eigenschaft nicht besitzen. Allerdings sind viele niedere Pflanzen, zumal aus den Gruppen der Algen und Pilze, so klein und zart gebaut, dass sie ohne irgend welche Vorbereitung unter das Mikroskop gelegt werden können. Würde man z. B. ein wenig Schimmelrasen oder einen kleinen Flocken der grünen, watteartigen, auf dem Wasser schwimmenden Algen (Zygnema, Conferva) auf eine Glasplatte in einen Wassertropfen bringen und eine zweite Glasplatte darüber legen, so würde ein solches Präparat ohne weiteres der mikroskopischen Beobachtung zugänglich sein. Ebenso könnte man Blätter von Moosen, Sporen, Pollenkörner oder Haare, die man mit einer Pincette abgebrochen hat, ohne vorgängige Präparation der Untersuchung unterziehen. Wollte man aber ein Laubblatt oder auch nur ein zartes Blumenblatt gleich unter das Mikroskop legen, so würde man zu seiner Enttäuschung die Bemerkung machen, dass selbst diese, wie fast alle anderen Theile höherer Pflanzen zu einer sofortigen mikroskopischen Betrachtung völlig ungeeignet sind.

Wir müssen also alle diese Dinge vor der Untersuchung in einen hierzu tauglichen Zustand versetzen, wir müssen sie präpariren, von denselben ein mikroskopisches Präparat herstellen. Dies ist, wie vorab bemerkt werden mag, häufig keine ganz leichte Sache, welche die Handhabung eines ganzen Instrumentariums voraussetzt und zwar eine geschickte Handhabung desselben; allein mit der nöthigen Geduld kann sie bis zu einer gewissen Vollkommenheit von Jedermann gelernt werden. Anfänglich fehlschlagende Versuche dürfen nicht entmuthigen, allmählig kommt die Geschicklichkeit und das Vertrautwerden mit den Werkzeugen von selbst.

Der fast durchweg angewandte Weg, Pflanzentheile zur mikroskopischen Beobachtung geeignet zu machen, besteht darin, dass man aus denselben mit einem sehr scharfen Messer zarte Schnitte von solcher Dünne herstellt, dass sie dem Lichte ungehindert den Durchtritt gestatten. Da nun, wie aus den Ausführungen im vorigen Abschnitte hervorging, bei starken Vergrösserungen das Gesichtsfeld an Helligkeit sehr verliert, so müssen die Schnitte schon aus diesem Grunde um so dünner sein, je stärkeren Vergrösserungen sie unterworfen werden sollen. Wie man solche Schnitte herstellt, wie die Instrumente beschaffen sind, mit denen dies geschieht, wie man letztere handhabt, wie man die gefertigten Schnitte weiter behandelt, wie man sie für spätere Besichtigungen dauernd aufbewahren kann, Alles das soll in den folgenden Capiteln beschrieben werden.

Bevor wir uns jedoch diesen Besprechungen zuwenden, wollen wir uns an dieser Stelle erst ganz im allgemeinen klar machen, was uns ein mikroskopischer Schnitt zeigt, und was er uns nicht zeigt. Wenn wir den Stengel einer Pflanze quer durchschneiden und dann ein feines Scheibchen herstellen, welches wir unter dem Mikroskop betrachten, so sehen wir, da uns das Mikroskop nur eine Ebene zur Anschauung bringt (vgl. p. 56), die den Stengel bildenden kleinen Theilchen, die Zellen, auf dem Querschnitt. Wir lernen also ihre Gestalt in einer Richtung des Raumes kennen. Um über ihre körperliche Gestalt ins Klare zu kommen, müssen wir noch zwei weitere Schnitte in der Längsrichtung durch den Stengel führen, die beide zu jenem senkrecht stehen. Der eine dieser Längsschnitte verläuft im Radius des Stengels und heisst der radiale, der zweite ist zu ihm senkrecht, verläuft also in der Tangente und heisst der tangentiale Längsschnitt. — Figur 101 zeigt an einem Keil aus einem Buchenstamme diese drei Schnitte. Es ist *abc* der Querschnitt, auf dem die Jahresringe und die Markstrahlen angedeutet sind, *adec* ist der radiale Längsschnitt, der uns

Jahresringe und Markstrahlen längsgeschnitten zeigt; *abfd* stellt den tangentialen Längsschnitt dar, auf dem nur die quergeschnittenen, punktirten Markstrahlen, dagegen keine Jahresringe zu sehen sind. Erst nachdem wir uns im Geiste von diesen drei Schnitten ein zusammenhängendes Bild construirt haben, wird uns der körperliche Bau jenes Pflanzentheiles klar werden. Damit aber dieses Bild ein völlig richtiges werde, ist es noch nöthig, dass die Schnitte genau in der Längs- und Querachse des betreffenden Theiles verlaufen, nicht in einem Winkel geneigt, also schräg zu denselben. Zu welch falschen Vorstellungen schräge Schnitte führen können, wird sehr leicht durch folgendes Beispiel klar werden. Es soll ein Organ ganz aus cylindrischen Zellen bestehen: auf dem Querschnitte werden diese also als Kreise, auf den beiden Längsschnitten als Rechtecke oder Quadrate erscheinen, denn der Querschnitt des Cylinders ist der Kreis, jeder beliebige Längsschnitt ein Rechteck oder Quadrat. Ein durch den Cylinder gelegter Schrägschnitt liefert keinen Kreis sondern eine Ellipse, deren beide Durchmesser — wie uns die analytische Geometrie lehrt — um so mehr von einander abweichen, je kleiner der Winkel zur Längsachse des Cylinders wird. Durchschneiden wir also unser oben angenommenes Organ nicht quer sondern schräg, so erscheinen uns jene Zellen nicht als Kreise sondern als Ellipsen. Wissen wir nicht, dass wir einen Schrägschnitt vor uns haben, so würden wir von dem Gewebe die Vorstellung bekommen, dass es aus plattgedrückten Cylinderzellen bestände. Wir müssen also vor Ausführung der Schnitte die Organe bezüglich ihrer Achsen richten oder orientiren; wie dies zu geschehen hat, wird später gleichfalls auseinandergesetzt werden. —



**101.**

Die gefertigten Schnitte werden auf eine nicht zu dicke Glasplatte, den Objectträger (vgl. p. 18) gelegt, auf dem sich ein Tropfen von Wasser oder einer anderen Flüssigkeit befindet, und mit einem kleinen, sehr dünnen Glasplättchen, dem Deckglase bedeckt. Früher untersuchte man die Objecte auch wohl trocken und ohne Deckgläschen; heutigentags wird jedoch nur noch verfahren wie angegeben. Selbst wenn andere Umstände es erlaubten, darf, wenigstens bei stärkeren Ver-

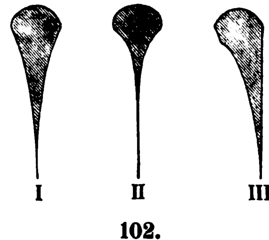
grösserungen, das Deckglas nicht fehlen, einestheils um das Objectivsystem zu schonen, anderntheils weil die Objective mit Rücksicht auf das Deckglas construirt sind (vgl. p. 24 ff.).

---

## II. Utensilien zum Präpariren.

Der Mikrologe hat, wie oben erwähnt wurde, eine ganze Reihe von Werkzeugen zur Herstellung der mikroskopischen Präparate nöthig. Im Folgenden wollen wir die häufigeren derselben zunächst aufzählen und, wo nöthig, beschreiben; ihre Handhabung und Verwendung lernen wir dann in den späteren Capiteln allmählig kennen.

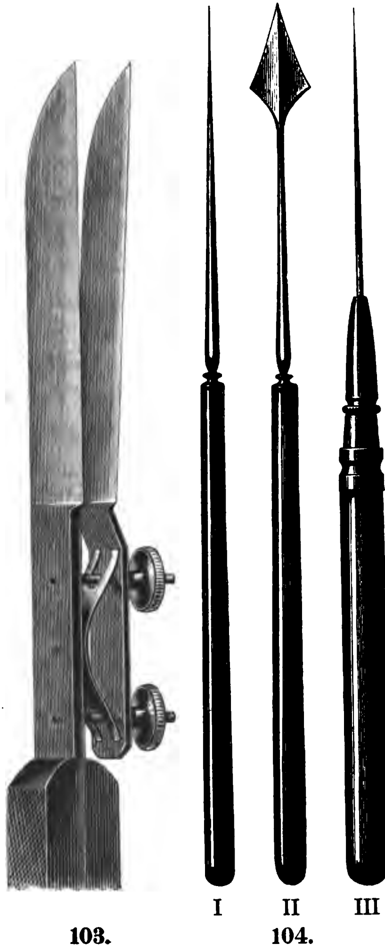
Als die wichtigsten Werkzeuge haben wir zuerst die Instrumente zum Schneiden zu nennen; unter ihnen nehmen die Rasirmesser die hervorragendste Stelle ein. Man verwendet die im Handel vorkommenden Formen, natürlich nur die besten, mit breiter, schwerer Klinge. Man besitzt deren mehrere, ein minder hohl geschliffenes (auf dem Durchschnitt wie Figur 102 I), gewöhnlich anzuwendendes, ein stark hohlgeschliffenes (II) für sehr zarte Pflanzentheile und ein sehr kräftiges für Hölzer und andere harte Gebilde. Hierzu kann man auch ein solches verwenden, dessen Klinge auf der Unterseite ganz eben ist (III); jedoch ist die letztere Form schwer zu schärfen. Jedes Messer hat sein eigenes Etui, in welches es beim Nichtgebrauch gesteckt wird; gebraucht man es längere Zeit nicht, so reibt man es zweckmässig mit Vaseline ein um das Rosten zu verhüten, denn jeder in der Nähe der Schneide befindliche Rostfleck macht es für unsere Zwecke unbrauchbar. Dieses Einreiben empfiehlt sich zumal dann, wenn man es mit an die Seeküste nimmt, wo bekanntlich unsere stählernen Utensilien dem Rosten im höchsten Grade ausgesetzt sind.



102.

In einigen Fällen, wo es gilt, von sehr weichen und nachgiebigen Pflanzentheilen Schnitte zu gewinnen, lässt sich hier und da statt des Rasirmessers das Doppelmesser anwenden, dessen vorzüglichste Construction (von Orth) in Figur 103 abgebildet ist. Es besitzt zwei parallele Klingen; die eine kann durch die beiden rechts sichtbaren

Schrauben der anderen genähert werden; beide bleiben bei dieser Annäherung parallel. Zum Schneiden werden die Klingen ganz dicht an einander geschraubt, und dann zieht man das Messer durch den zu schneidenden Gegenstand ziemlich schnell hindurch. In der Botanik ist die Anwendung des Doppelmessers jedoch eine sehr beschränkte.




103. 104.

Von den Instrumenten, die nicht eigentlich zur Herstellung der Schnitte selbst dienen, nennen wir vor allen die vielgebrauchten Nadeln. Feinspitzige, englische Nähnadeln, mit Siegellack in ein genügend langes Heft eingelassen (Figur 104 I) oder durch eine Metallkappe in demselben befestigt (III), in beiden Fällen leicht gegen andere auszuwechseln, leisten die besten Dienste. Lassen sich die Nadeln gegen andere austauschen, so braucht man mit ihrer Handhabung nicht zu vorsichtig zu sein, man kann sie in Säuren und in Canadabalsam tauchen, man kann sie erwärmen u. s. w.

Die Nadel kann oft durch die Lanzettnadel (Figur 104 II) ersetzt werden, die den Vortheil darbietet, dass Schnitte von ihr aufgehoben werden können ohne sich, wie bei der Nadel, um sie herumzurollen, und die ausserdem die schätzenswerthe Eigenschaft hat, dass sie mit ihrer Pfeilspitze beiderseits schneidet. Man hat zweckmässig solche mit breiter und solche mit schmaler Lanzettspitze.

Ein sehr häufig verwandtes Werkzeug, um Pflanzenorgane vor der Schnittausführung zurecht zu schneiden, ist das Scalpell. Derartige kleine Messerchen haben etwa die Form von Figur 105 I oder II, beide in natürlicher Grösse. Sichelförmig gekrümmte Scalpelle (III) sind

gleichfalls zu empfehlen wo es nöthig wird verstecktere Organe herauszupräpariren.

Zu demselben Zwecke kann bisweilen auch die Scheere mit gekrümmten Schenkeln dienen, während die geradschenklige angewandt wird um unnütze Stücke von hergestellten Schnitten abzutrennen und dergl. mehr.

Dass auch Pincetten, gerade wie gekrümmtschenklige, zum Ergreifen so kleiner Gegenstände, wie die mikroskopischen Schnitte, nöthig sind, versteht sich von selbst. Bald ist eine solche empfehlenswerth, deren Spitzen an der Innenseite gefurcht sind, bald eine solche mit glatten Spitzen. Stahlpincetten sind für manche Flüssigkeiten nicht verwendbar, für welche sich hingegen solche von Messing, Neusilber oder Nickelin eignen.

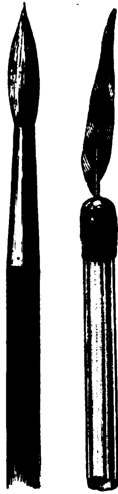


105. 106.

Um fertige Schnitte aus einer grösseren Flüssigkeitsmenge herauszufischen, ohne dass sie sich zusammenrollen, dient die Präparatschaufel oder der Spatel, von dem Figur 106 eine den Zwecken des Botanikers entsprechende Form darstellt. Die Schaufel ist am besten aus Nickelin oder Neusilber gefertigt, die ovale Scheibe ist in einem Winkel von 120° gegen den Stiel gerichtet. Diese Richtung erweist sich als die bequemste, wenn man z. B. einen auf der Schaufel liegenden Schnitt mit einer Nadel, einer Lanzette oder einem Pinsel auf den Objectträger schieben will.

Das Auffangen und Uebertragen der Schnitte kann in vielen Fällen mit Vortheil durch Pinsel von der Form Figur 107 geschehen, die ja zweifellos vor allen Metallinstrumenten Das voraus haben, dass sie den Schnitt weit weniger verletzen können. In noch erhöhtem Maasse eignen sich hierzu Schnepfenfedern. Auf dieses vortreffliche Requisit, welches die Weichheit des Pinsels mit der Starrheit der Nadel verbindet, wurde ich zuerst durch Prof. Russow in Dorpat aufmerksam gemacht; ich habe seither die Vortrefflichkeit derselben zu schätzen gelernt. Von

den von uns zu verwendenden Federn besitzt jede Schnepfe leider nur zwei; es sind die kleinsten Federn am sogenannten Eckflügel, lanzettförmig, mit Spule höchstens 30 mm lang, 4 mm breit (Figur 108). Man befestigt sie, um eine bequeme Lanzettnadel daraus herzustellen, mit etwas Siegellack in eine am anderen Ende zugeschmolzene, dünne, etwa 10 cm lange Glasröhre, wie es die Figur zeigt.



107. 108.

Wir gelangen nunmehr zur Aufzählung der beim Mikroskopiren verwandten Glas- und Porzellangeräthe, wobei vorweg bemerkt werden muss, dass zu deren Gebrauch natürlich Bunsen'scher Gasbrenner oder Spirituslampe nebst Dreifuss, Filtrirgestell, Filtrirpapier und Glaswolle, sodann ein Retortenhalter nicht fehlen dürfen. Zum Erhitzen kleiner Flüssigkeitsmengen in Uhrgläschen und kleinen Porzellanschalen verfertigt man sich zweckmässig aus Messingdraht einen kreisförmigen Reif von 5 bis 7 cm Durchmesser (Figur 109), den man in einen hölzernen Feilenstiel einlässt, und den man mit engmaschigem Messingdrahtnetz bedeckt, welch letzteres durch einfaches Umbiegen am Reif befestigt wird. Man kann damit die Erwärmung sogleich aus freier Hand vornehmen.

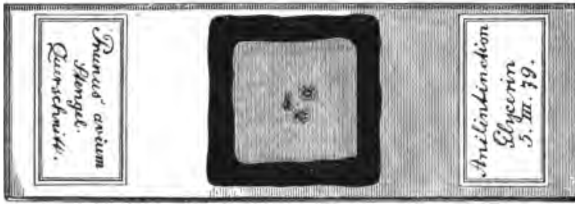


109.

Wir beginnen mit Objectträger und Deckglas, welche zweifellos die beiden wichtigsten Glasgegenstände für den Mikrologen sind.

Der Objectträger ist eine rechteckige Platte von gutem fehlerfreien, möglichst farblosem Glase. In Deutschland sind zwei Grössen desselben ziemlich gleich viel in Gebrauch. Die erste, das sogenannte Englische Format (Figur 110) misst $76 \times 26$ mm, die zweite, das Deutsche Format (Figur 111) begnügt sich mit $48 \times 28$ mm. Welcher Form man den Vorzug giebt, ist Geschmacksache; ersteres ist jedenfalls geräumiger und bietet hinreichend Raum für genügend grosse Etiketten, letzteres ist beim Reinigen und Hinfallen dem Zerbrechen weniger ausgesetzt. Wichtiger als das Format ist die Qualität und die Dicke des Glases; es darf wenigstens in der Mitte keine Blasen oder Unreinigkeiten

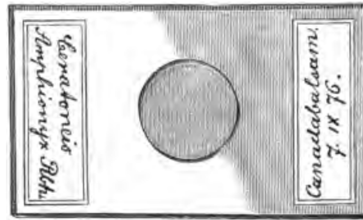
enthalten, und es soll nicht viel über 1 mm dick sein. Zu dicke Objectträger sind nicht ohne Einfluss auf das mikroskopische Bild, zumal bei starken Vergrösserungen und bei Anwendung des Abbe'schen Apparates,



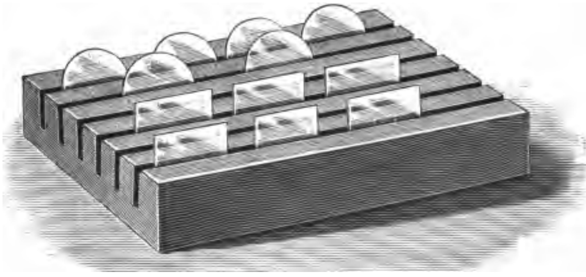
110.

da sie die Wirkung des letzteren verhindern können (vgl. p. 40). Endlich ist es für den Gebrauch sehr bequem, wenn die Kanten abgeschliffen sind.

Das **Deckglas** ist ein quadratisches, rechteckiges oder rundes Glasplättchen von 0·1 bis 0·2 mm Dicke. Es soll blasen- und höckerlos, eben und farblos sein. Zur Beobachtung eignen sich quadratische von 18 mm Seitenlänge, bei Anwendung von Flüssigkeiten, deren Dämpfe dem Objectiv schädlich werden können (Säuren, Jodlösungen), grössere von etwa 25 × 25 mm Ausdehnung. Das Reinigen der Deckgläser geschieht durch Abspülen mit



111.



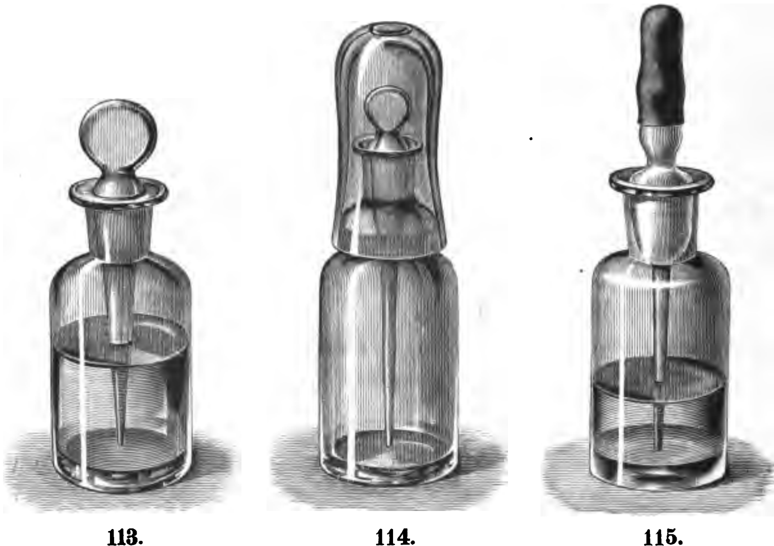
112.

Wasser und Spiritus und durch Trockenreiben mit einem weichen Leinen zwischen den Fingern. Dann fasst man das Deckglas mit einer Pincette und entfernt etwaige Leinwandfasern mit einem weichen Pinsel

unter gleichzeitigem Darüberblasen. Will man eine grössere Zahl gereinigter Deckgläschen für die Beobachtung zur Hand haben, so steckt man sie senkrecht in ein Holztäfelchen (Figur 112), in welches mit einer Laubsäge tiefe Rinnen gesägt sind, wie aus der Abbildung ersichtlich.

Von anderen Glasgeräthen sind zum Arbeiten mit dem Mikroskop erforderlich Reagenzgläser, einige Kochkolben, Glastrichter und Glasglocken verschiedener Grösse, Glasstäbe, Bechergläser, eine kleine Spritzflasche, Pulvergläser zum Aufbewahren trockener Chemikalien und Arzeneiflaschen oder Stöpselgläser für Flüssigkeiten (Reagentien).

Von Stöpselgläsern hat man für die Zwecke des Mikrologen einige sehr bequeme Formen hergestellt, aus denen man ohne andere



113. 114. 115.

Vorrichtungen einen kleinen Flüssigkeitstropfen herausheben und auf den Objectträger bringen kann. Drei gebräuchliche Formen sind in Figur 113 bis 115 abgebildet. Figur 113 stellt ein Glas dar, dessen eingeschliffener Stöpsel sich unten in einen Glasstab verlängert, der in die Flüssigkeit taucht und an dem beim Herausziehen ein Tropfen hängen bleibt. Das Glas Figur 114 ist ähnlich, besitzt aber über dem Glasstöpsel eine aufgeschliffene Glaskappe und soll durch diesen doppelten Verschluss die Gewähr leisten, dass in ihm befindliche Säuren etc. nach

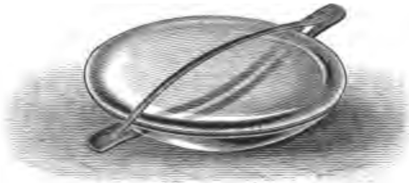
aussen hin nicht verdunsten können. Am vollkommensten ist das Glas Figur 115 eingerichtet; der eingeschliffene Glasstöpsel ist hier hohl, oben offen und mit einer Gummikappe überzogen, unten verjüngt er sich in eine dünne Glasröhre. Durch Druck auf die Kappe füllt man den Stöpsel theilweise mit Flüssigkeit an, hebt ihn hervor und kann durch gelinden oder stärkeren Druck einen beliebig grossen Tropfen aus ihm hervortreten lassen.



116.

Von Trichtern wählt man die kleineren Formate, mit einer Neigung der Wände von 60 ⁰ und schräg abgeschnittener unterer Oeffnung. Wo es sich um das Filtriren kostbarer Flüssigkeiten handelt, kann man auch an Stelle des Trichters ein Augentropfglas (Figur 116) verwenden, in das man einen Bausch gut ausgewaschener und getrockneter Glaswolle schiebt.

Zur Aufnahme gefertigter Schnitte, zur Weiterbehandlung und Tinction (s. u.) derselben eignen sich Uhrgläschen, Glasschalen und Glasdosen. Um die Verdunstung der in einem Uhrgläschen befindlichen, geringen Flüssigkeitsmenge zu verhindern, kann man ein gleichgrosses darauflegen und beide durch eine Metallklammer vereinigen (Figur 117). — Die Glasdosen besitzen einen lose auflegbaren oder einen mit Nuthe eingeschliffenen Deckel; neuerlich hat man, zum schnellen Manipuliren beim Färben mikroskopischer Schnitte, auch sogenannte Siebdosen construirt (Figur 118). Eine Glasdose, deren Boden siebartig durchlöchert ist, wird in eine weitere, gewöhnliche gestellt, welche die Tinctionsflüssigkeit enthält. Letztere dringt auch in die Siebdose, in die man nun die zu färbenden Schnitte bringt, darin die gewünschte Zeit belässt und dann die Siebdose hervorhebt. Die Flüssigkeit fliesst ab, die Schnitte bleiben zurück; durch Einstellen in destillirtes Wasser kann man diese auswaschen, ohne sie mit Instrumenten berühren zu müssen.



117.



118.

Eine grössere Glasglocke, die in eine Porcellanschüssel mit Wasser taucht, dient dazu, um unfertige mikroskopische Präparate aufzunehmen, ohne dass die Einschlussflüssigkeit verdunsten kann. Zu dem Behufe stellt man unter die Glocke ein Zinkgestell (Figur 119), auf welches die Präparate mit ihren Objectträgern zu liegen kommen.

Zur Herstellung der mikroskopischen Reagentien (s. u.) würden noch einige Maasskolben, Pipetten, ein Maasscylinder (Figur 120) und eine kleine Apothekerwaage nöthig sein, und fügen wir hinzu, dass wir von Porcellangefässen häufig Schalen, Tiegel und Reibschale anzuwenden haben, so haben wir damit wenigstens die zum Mikroskopiren häufiger gebrauchten Utensilien aufgezählt.



119.




120.

---

# III. Einsammeln, Cultiviren, Härten, Fixiren und Erweichen des Materiales.

Zum Einsammeln der dem mikroskopischen Studium zu unterwerfenden Pflanzentheile sind gewöhnlich eigene Vorkehrungen nicht nöthig. Man nimmt die Pflanze ganz oder theilweise mit nach Hause, und man hat lediglich dafür zu sorgen, dass der gewünschte Theil nicht verwelke. Daher sind zum Transport solcher Theile kleinere oder grössere Blechdosen zu empfehlen, in welche man wenig angefeuchtetes Filtrirpapier gelegt hat; man ist dann vor dem Verwelken gesichert. Sehr zarte Organe kann man auch einzeln in kleinen, starkwandigen, mit einem Korkstöpsel zu verschliessenden Glascylinderchen unter-

bringen. Zu Hause angekommen wird das Material, im Falle es frisch untersucht werden soll, in Wasser gestellt, oder andernfalls nach einer der unten angegebenen Weisen conservirt.

Etwas umständlicher ist das Sammeln von Süsswasseralgen und anderer, an gleichen Orten lebender Pflänzchen. Für den Transport dieses Materiales ist eine Anzahl weithalsiger, mit Korkstöpseln versehener Glasflaschen nöthig, in welche das gefundene Material nebst Wasser übertragen und unter möglichst wenigem Schütteln nach Hause geschafft wird. Um, soweit angängig, das Schütteln zu vermeiden, füllt man die Gläser bis oben hin mit Wasser an, so dass unter dem Korkstöpsel nur noch eine grössere Luftblase befindlich ist. Zu Hause werden die Gläser in geräumige, vor Staub zu schützende und im Schatten zu haltende Glasgefässe ausgeleert und mit einer genügenden Menge Wasser versetzt. Die zu sammelnden Algen selbst streift man von Wasserpflanzen, von im Wasser befindlichen Steinen, Holzwerk u. s. w. ab, die frei schwimmenden fängt man mit einem kleinen Netze, dessen spitz zulaufender Sack aus Leinwand gefertigt ist, und welches man langsam durch das Wasser zieht. Die gefangenen Algen findet man zumal in der Spitze des Netzes. Algen, die auf dem Boden, im Schlamme seichter Gewässer vegetiren, kann man bequem fangen, wenn man an einem hinreichend langen Stocke ein weithalsiges Glas auf irgend eine Weise befestigt. Das Glas verschliesst man mit einem Kork, an den ein langer Bindfaden gebunden ist, und senkt das geschlossene, leere Glas in das Wasser an die gewünschte Stelle. Durch Anziehen des Bindfadens öffnet man jetzt das Glas, worauf die in ihm befindliche Luft sogleich durch Wasser und Schlamm ersetzt wird; man hebt es nun schnell aus dem Gewässer hervor.

Oft recht schwierig ist das Sammeln der Meeresalgen. Ich habe es immer am bequemsten gefunden, ein grosses Glas, etwa ein Einmacheglas, das durch einen Bindfaden tragbar gemacht wurde, mit an den Strand zu nehmen, um die theilweise nicht kleinen Pflanzen bequem unterzubringen. Manches findet man auf dem Strande selbst, etwa nach einem Sturme, oder zur Ebbezeit in zurückgebliebenen Wasserlachen, an Schlengen (Buhnen), Steinen, Mollusken, Krebsen, an Seegras; im übrigen ist man auf den Fischer mit seinen Netzen angewiesen, Dinge, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann. —

In vielen Fällen wird man es vorziehen, die zu untersuchenden Pflanzen nicht zu sammeln sondern selbst zu züchten, zumal dann, wenn es sich um die Untersuchung von Keimpflanzen und Wurzeln handelt. Für oberirdische Organe eignet sich die Aussaat in Erde in gewöhn-

lichen Blumentöpfen; will man aber Wurzeln gewinnen, die ganz frei von Erdbestandtheilen sind, so wendet man die sogenannte Wassercultur an. Zwiebeln und Knollen kann man in den bekannten Hyacinthengläsern treiben lassen; kleinere Samen müssen zu diesem Behuf anders behandelt werden. Man lässt sie auf flachen Porcellantellern keimen, in die man eine niedrige Wasserschicht gegossen hat, und die man mit einer Glasscheibe bedeckt. Sind die Wurzeln bis zu einer gewissen Länge gediehen, so bringt man sie in einem tiefen, weiten Glase vermittels Draht oder Nadeln, die man durch ein Keimblatt stösst und über den Glasrand biegt oder in einen Kork steckt, so an, dass ihre Keimwurzeln in die Flüssigkeit tauchen, mit der das Glas theilweise angefüllt ist und die, dem Verbrauche entsprechend, zeitweise ergänzt werden muss. Sehr bequem für diesen Zweck sind auch die Schnellkeimapparate der Firma Schönjahn u. Coldewe in Braunschweig, denen runde, rostartig durchbrochene Porcellanplatten beigegeben werden, auf die man zur Veranstaltung einer Wassercultur die Samen nur zu legen braucht ohne weitere Befestigung. Man lässt die Pflanzen entweder in gewöhnlichem Flusswasser die Wurzeln treiben, oder, falls es auf eine Cultur etwa bis zur Blütenbildung abgesehen ist, in einer künstlichen Nährlösung, in der annäherungsweise die löslichen Bestandtheile des Bodens gelöst enthalten sind. Eine bewährte Nährflüssigkeit Phanerogamen ist die folgende:

| | | |
|---|---|---|
| Wasser, destillirt | 1 | l. |
| Kaliumnitrat | 1 | g |
| Calciumsulfat | 0·5 | „ |
| Magnesiumsulfat | 0·5 | „ |
| Calciumphosphat | 0·5 | „ |
| Chlornatrium | 0·5 | „ |
| Eisenchloridlösung | 1 | Tropfen. |

In gewissen Fällen muss man zu anderen Culturen seine Zuflucht nehmen, so säet man z. B. Moorpflanzen auf Torfplatten aus. Es eignet sich dazu am besten der bekannte Insectentorf, von dem man sich eine Platte schneidet, die etwa in einen Suppenteller passt. Man lässt sie vor der Aussaat mit Nährflüssigkeit durchtränken, mit der man auch den Teller anfüllt. Ueber diesen stülpt man, so lange die keimenden Pflänzchen noch klein sind, eine Glasglocke.

Das gesammelte oder cultivirte Material wird man in vielen Fällen frisch untersuchen, dann unterliegt es keiner weiteren Vorbehandlung. Oft aber ist es im frischen Zustande nicht gut schnittfähig, oder es würde der Zellinhalt nicht gut zur Anschauung kommen. Dann müssen wir

auf die Pflanzentheile erst gewisse Flüssigkeiten einwirken lassen um sie zu härten und um die Zellinhalte in situ zu fixiren. Solche Härtungs- und Fixirungsflüssigkeiten sind in grosser Zahl in Gebrauch; wir wollen hier nur die wichtigsten durchgehen.

1. *Alkohol.* Die zum Härten von Pflanzentheilen ganz allgemein verwandte Flüssigkeit ist der Alkohol, den die Eigenschaft, Wasser zu entziehen, zu diesem Zwecke tauglich macht. Der absolute Alkohol besitzt zugleich in hohem Grade die Fähigkeit, protoplasmatische Zellinhalte zu fixiren. Viele Pflanzenorgane vertragen ein sofortiges Einlegen in absoluten Alkohol, wobei man Sorge trägt, dieselben soweit zu zerkleinern, dass sie von ihm in kurzer Zeit durchdrungen werden können. Bei einigen (z. B. Embryosäcken) kann man zum augenblicklichen Härten und Fixiren sogar kochenden absoluten Alkohol anwenden. Andere, zarte Theile werden allmählig gehärtet, indem man sie zunächst in schwachen, nach und nach zu verstärkenden Alkohol bringt. Dies geschieht am bequemsten, wenn man das Organ in ein langes Reagenzglas bringt, destillirtes Wasser hinzugiesst und anfänglich nur wenig absoluten Alkohol zuträufelt. Nach je mehreren Stunden setzt man allmählig weitere Portionen Alkohol zu; schliesslich giesst man das Ganze ab und ersetzt es durch absoluten Alkohol. Die in Alkohol gehärteten Pflanzentheile („Alkoholmaterial") können in demselben beliebig lange aufbewahrt und jederzeit zur mikroskopischen Untersuchung herangezogen werden. Die Mehrzahl erreicht jedoch ihre grösste Schnittfähigkeit erst dann, wenn sie vor Anfertigung der Schnitte 24 bis 48 Stunden lang in einem Gemisch von

| | |
|---|---|
| Alkohol, absolut . . . . . . . . . . | 1 Raumth. |
| Glycerin . . . . . . . . . . . . . . | 1 „ |
| Wasser, destillirt . . . . . . . . . | 1 „ |

gelegen hatte. In dieses Gemisch wird das Material direct aus dem absoluten Alkohol übergeführt, und es dient, wie wir später sehen werden, bei Ausführung der Schnitte als Flüssigkeit, mit der das Messer und das zu schneidende Object zu befeuchten sind.

Weniger häufig als Alkohol werden die folgenden Flüssigkeiten und Gemische zur Härtung und Fixirung von Pflanzentheilen verwandt. Ihre Anwendung ist zumal da angezeigt, wo es sich um Studien an Zellkernen, Sichtbarmachung karyokinetischer Elemente (Mitosen) etc. handelt.

2. *Chromosmiumessigsäure.* Die Gemische von Chromsäure, Osmiumsäure und Essigsäure (FLEMMING'sche Flüssigkeit) werden vorzüglich in zwei Stärken angewandt, nämlich

I. Starke Mischung.

| | | |
|---|---|---|
| Chromsäurelösung in Wasser (1 %) . . | 15 | Raumth. |
| Osmiumsäurelösung „ „ (2 %) . . | 4 | „ |
| Eisessig . . . . . . . . . . . . . | 1 | „ |

II. Schwache Mischung.

| | | |
|---|---|---|
| Chromsäure in Wasser (0·25 %) . . . | 1 | Raumth. |
| Osmiumsäure „ „ (0·1 %) . . . | 1 | „ |
| Essigsäure „ „ (0·1 %) . . . | 1 | „ |

Objecte für Zellkernstudien fixirt man am besten in der starken Mischung. Die frischen, möglichst kleinen Pflanzenstücke werden mindestens eine halbe Stunde, besser 2 bis 3 Tage in dem Gemisch gelassen. Die verwandte Flüssigkeitsmenge braucht nur etwa viermal grösser zu sein als das eingelegte Stück. Ist die Härtung vollendet, so wird das Material mindestens eine Stunde lang in destillirtem Wasser gut ausgewaschen und mit absolutem Alkohol nachgehärtet. — Die Flemming'sche Mischung kann in gewissen Fällen auch durch die folgenden vier Flüssigkeiten ersetzt werden.

3. *Chromessigsäure* ist ein Gemisch von 1 Th. 0·1procentiger Essigsäure mit 1 Th. 0·2procentiger Chromsäure und wirkt viel langsamer als die Flemming'schen Flüssigkeiten. Die zu fixirenden Theile bleiben darin mehrere bis 24 Stunden. Noch langsamer wirkt

4. *Chromsäure*, einprocentig, die ebenso wie 3 angewandt wird. Die weitere Behandlung bei 3 und 4 ist wie bei 2. — Sämmtliche Chromsäuregemische verderben, wenn sie dem Lichte einige Zeit ausgesetzt werden und müssen im Dunkeln aufbewahrt werden.

5. *Osmiumsäure*, in einprocentiger wässeriger Lösung bewirkt momentane Fixirung des Zellinhaltes, der Kerntheilungsfiguren. Die Objecten können einige Secunden bis mehrere Stunden in ihr verweilen und müssen nachher mit destillirtem Wasser gut ausgewaschen werden. Nachhärtung in absolutem Alkohol und Uebertragen in das oben angegebene Alkohol-Glyceringemisch ist empfehlenswerth. — Die Osmiumsäurelösung, deren Dämpfe die Schleimhäute stark angreifen, ist in gut schliessenden Gefässen zu bewahren.

6. *Essigsäure*, 1- bis 5procentig, in Wasser oder in 50procentigem Alkohol gelöst, ist für viele Zellkern-Präparationen anwendbar. Die Einwirkung kann hier längere Zeit andauern.

7. *Pikrinsäure*, eine concentrirte wässerige Lösung oder in 50procentigem Alkohol gelöst, kann vielfach zur Fixirung von Algen, des plastischen Zellinhaltes höherer Pflanzen benützt werden. Pfitzer setzt

diesen Lösungen einige Tropfen wässeriger Nigrosinlösung zu, bis eine dunkel olivengrüne Flüssigkeit entsteht und erhält so ausser der Härtung zugleich eine Nigrosin-Tinction (s. u.). — Uebertragen der gehärteten Stücke in destillirtes Wasser oder in 20- bis 40procentigen Alkohol und sorgfältiges Auswaschen in denselben.

8. *Jodlösung*, concentrirt in Brunnen- oder Seewasser, erhalten durch Zugiessen einiger Tropfen Jodtinctur zum Wasser, fixirt Süsswasser- und Meeresalgen vortrefflich (Kent, Berthold). Einwirkung einige Minuten; ebenso langes Auswaschen in schwachem Alkohol.

9. *Ripart'sche Flüssigkeit.* Zum Fixiren von Algen und auch des protoplasmatischen Inhaltes höherer Pflanzen eignet sich eine von Ripart angegebene Mischung, deren Wirkung sehr allmählig ist, und die sich daher für die zartesten Objecte eignet:

| | | |
|---|---|---|
| Kupferacetat . . . . . . . . . . . . . . | 0·3 | g |
| Kupferchlorid . . . . . . . . . . . . . | 0·3 | „ |
| Eisessig . . . . . . . . . . . . . . . | 1 | cc |
| Campherwasser . . . . . . . . . . . . | 75 | „ |
| Destillirtes Wasser . . . . . . . . . . | 75 | „ |

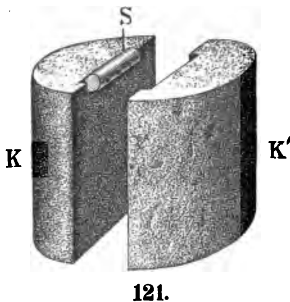
Die Bestandtheile werden gemischt, resp. gelöst, die entstehende, schwach hellblaue Flüssigkeit wird filtrirt. Einwirkung mehrere Tage lang, Auswaschen in destillirtem Wasser.

Während wir häufig den Härtegrad eines Organes auf die soeben angegebenen Weisen zu vergrössern haben, tritt viel seltener der umgekehrte Fall ein, dass Objecte zum Schneiden zu hart sind und daher vor Ausführung der Schnitte erweicht werden müssen. Zu dieser Gruppe von Objecten gehören vornehmlich eingetrocknete Pflanzentheile, z. B. Drogen, ferner Hölzer, getrocknete Blätter von Herbariumspflanzen, harte Samen. Bei manchen von ihnen, z. B. getrockneten Blättern und Wurzeln, genügt es bereits, dieselben einige Minuten bis Stunden in kaltes oder heisses Wasser zu legen, um sie nach geschehener Aufweichung in das p. 101 angegebene Alkohol-Glyceringemisch zu übertragen. Bei anderen (Rinden, Samen) erreicht man eine Erweichung durch Anwendung schwacher Alkalien. Am empfehlenswerthesten ist ein etwa 2procentiges Ammoniakwasser, in welches man jene Sachen auf 24 bis 48 Stunden bringt, nachher werden sie in 50procentigem Alkohol ausgewaschen und darauf in Alkohol-Glycerin gelegt. Sehr schwer zu erweichende Objecte vertragen die Anwendung einer 5procentigen Kalilösung und müssen bisweilen längere Zeit darin verbleiben.

## IV. Vorbereitung des Materiales zum Schneiden.

Viele widerstandsfähige Theile von Pflanzen: Hölzer, härtere Stengel, Wurzeln, grössere Samen lassen sich frisch oder gehärtet ohne weitere Vorbereitung in Schnitte zerlegen, indem man sie zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand festhält. Eine grosse Reihe anderer, kleiner, weicher und leicht quetschbarer Organe müssen dagegen vorher eigens zu diesem Zwecke in geeigneten Materialien befestigt oder eingeklemmt werden. Seltener werden sie auch eingebettet, d. h. sie werden mit einem in der Wärme oder in gewissen Flüssigkeiten flüssigen, bei gewöhnlicher Temperatur oder durch Verdunsten jener Flüssigkeiten erstarrenden Körper durchtränkt und umgeben, um in Gemeinschaft mit diesem geschnitten zu werden. Wir wollen einige der häufiger gebrauchten Methoden angeben; jedem einzelnen Falle muss es natürlich überlassen bleiben, das Passende auszuwählen.

**A. Einklemmen in Kork und Hollundermark.** Gesetzt, wir hätten durch einen dünnen Stengel einen Längsschnitt zu verfertigen. Es würde schwer halten, denselben mit den Fingern zu fassen, und wir müssen ihn daher zunächst auf eine andere Weise in eine festere Stellung bringen. Wir wählen einen guten, nicht zu kleinen Flaschenkork aus, der wenigstens oben frei von den grossen, mit dunkelbraunem Mehl theilweise erfüllten Poren ist. Durch anfänglich gelindes, später zu verstärkendes Beklopfen mit einem Holzhammer o. dergl. können wir ihn für unseren Zweck noch viel geeigneter machen. Wir stellen ihn sodann auf eine wagerechte Unterlage, und führen mit einem recht scharfen, grossen Taschenmesser einen mittleren Längsschnitt durch denselben, indem wir ihn dadurch in die beiden Hälften $K$ und $K'$ (Figur 121) zerlegen. Vorher hatten wir von dem zu schneidenden Stengel mit dem Scalpell (p. 92) einen passenden Abschnitt hergestellt, welcher vor uns in einer kleinen Porcellanschale in Wasser (bei frischem Material) oder in Alkohol-Glycerin (bei gehärtetem; vgl. p. 101) liegt. Wir bringen nun an der oberen Endfläche des Korkes, wo sie den verfertigten Längsschnitt berührt, einen dem



121.

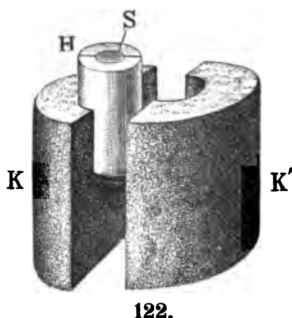
Stengelabschnitt entsprechenden, vierseitig-prismatischen Einschnitt an, so tief, dass das Stengelstück gerade hineinpasst, aber oben und seitlich halb herausragt (vgl. die Figur). Das Stengelstück *S* wird nun in diesen Einschnitt hineingelegt und mit 2 oder 3 kurzen, dünnen Stecknadeln darin befestigt, wie es die Figur zeigt. Ist das geschehen, so legen wir das Korkstück mit dem Stengel in die oben erwähnte Porcellanschale, damit letzterer nicht austrockne. Die andere Korkhälfte *K'* bekommt jetzt einen der seitlichen Hervorragung des Stengels *S* entsprechenden Ausschnitt und wird dann an *K* gelegt. Es schaut nun oben aus den vereinigten Korkhälften der Stengel etwa halb heraus; sie werden durch Bindfaden oder durch einen Kautschukring oder am besten durch eine passende Blechhülse zusammengehalten.

Ist von dem Stengel ein genügend langes Stück vorhanden, und ist er ziemlich zähe, so kann man auch in vereinfachter Weise zum Anfertigen von Längsschnitten so verfahren, dass man den Stengel seitlich an einem kleinen Medicinalkorke mit einer Stecknadel befestigt. In der Höhe der Endfläche des Korkes schneidet man den Stengel zur Hälfte ein, biegt ihn über die Endfläche herüber, schneidet ihn an der anderen Seite dieser nochmals ein, biegt das Stengelende nach abwärts und befestigt es durch eine zweite Stecknadel. Die Schnitte werden von dem auf der Endfläche des Korkes ruhenden Stengelstück verfertigt. —

Nun wollen wir sehen, welcher Vorbereitungen es bedarf, wenn wir von einem recht weichen Stengel Querschnitte gewinnen wollen. Wir nehmen wieder einen Flaschenkork wie vorhin und suchen ein Stück von nicht zu dünnem, guten Hollundermark [1] aus. Mit einem dem Hollundermark an Dicke entsprechenden Korkbohrer durchbohren wir den Kork in der Mitte von oben bis unten oder auch nur bis zur Hälfte seiner Höhe. Nun wird er wie vorhin mitten von oben bis unten durchschnitten, so dass die Durchbohrung gleichfalls in der Mitte getroffen wird (Figur 122, *K K'*). Fügen wir beide Hälften wieder zusammen, so passt das Hollundermark gerade in das Bohrloch hinein. Darauf gehen wir an die Bearbeitung des Hollundermarks. Mit einem scharfen Rasirmesser schneiden wir von der Stange ein Cylinderchen ab, das etwa halb so lang ist als der Kork. Obere und untere Schnittfläche sind eben und wagerecht. Darauf wird der Cylinder mit dem Rasir-

[1]) Das Hollundermark verschafft man sich leicht im Frühjahr von Sambucus nigra aus den abgestorbenen, trockenen Schösslingen, aus welchen es sich ohne Schwierigkeit in langen Stangen verschiedenster Dicke herausschälen lässt. Das noch weichere Mark der Sonnenrose (Helianthus tuberosus) ist für sehr zarte Gebilde empfehlenswerth.

messer der Länge nach aufgespalten und in jeder Hälfte eine halbkreisförmige Rinne angebracht, so dass beide nach Zusammenfügen der Hälften einen Hohlkanal ergeben. Dieser Kanal ist von der Weite, dass das Stengelstück gerade hineinpasst (Figur 122, *S*, *H*). Solche Rinnen werden sehr bequem mit einer ganz kleinen runden Feile hergestellt. Das Hollundermark bringt man darauf in die Flüssigkeit, in der das Stengelstück sich befindet (s. o.), damit es von derselben durchtränkt werde, dann legt man letzteres in die Rinne, fügt beide Markhälften an einander, setzt das Hollundermark in die Korkrinne ein (wie es *K*, *H*, *S* Figur 122 zeigt), legt die andere Korkhälfte *K'* auf und fixirt beide wie vorhin durch Bindfaden, Kautschukring oder Blechhülse. Bis zum Schneiden verbleibt die Vorrichtung in der oben genannten Flüssigkeit, so dass Hollundermark und Stengel in sie hineintauchen. Damit die Hollundermarkstange vor dem Messer nicht ausweiche, soll sie nur wenig aus dem Kork hervorsehen.



122.

Dieselbe Einrichtung ist auch zu empfehlen, wenn Schnitte durch Laubblätter oder andere flächige Gebilde gemacht werden sollen. Das Hollundermark erhält alsdann jedoch keine Längsrinne, sondern das zurechtgeschnittene Blattstück wird in das nur längsgespaltene Hollundermark eingeklemmt.

Im einen wie im anderen Falle kann man auch den Kork ganz fortlassen und die durch einen Faden zusammengehaltene Hollundermarkstange mit den Fingern fassen; jedoch gewährt das Einlassen in einen Kork die Sicherheit, dass das zu präparirende Organ keinerlei Quetschung erfährt.

Grössere und harte Samen können weder zwischen Kork noch Hollundermark eingeklemmt werden, da sie viel zu widerstandsfähig sind und beim Schneiden durch das Messer aus diesen herausgehoben würden. Man spannt sie daher in einen kleinen Schraubstock ein, wie ihn die Uhrmacher gebrauchen, und der mit der Hand gehalten wird. Kleinere und weniger harte Samen klebt man in Wachs oder Stearin ein (Moeller). Hierzu wählt man ein Stückchen einer Wachs- oder Stearinkerze, erwärmt das eine Ende desselben gelinde über einer Flamme, drückt in die weichgewordene Masse den Samen soweit hinein, dass er zur Hälfte daraus hervorragt, lässt erkalten und kann nun sogleich die Schnitte ausführen.

**B. Einbetten.** Wenngleich die Methoden des Einbettens, die bei den Zootomen eine so wichtige Rolle spielen, in der Pflanzenanatomie zur Zeit nur wenig geübt werden, so wollen wir dennoch einige derselben hier angeben, weil sich diese Methoden nach der Meinung des Verfassers nunmehr auch in der Botanik allgemein einbürgern müssen, falls man von den zartesten und schwierigsten Objecten wirklich gute Schnitte erhalten will. Es ist ja richtig, dass Geschicklichkeit und Ausdauer auch ohne vorheriges Einbetten vortreffliche Schnitte gewinnen lassen, allein immer werden dieselben mehr ein Spiel des Zufalles sein. Häufig misslingt dann gerade auch der Schnitt, auf den Alles ankommt, der etwa eine Scheitelzelle median treffen soll, den man durch das Centrum eines Würzelchens legen will etc. Diese Zufälligkeiten kommen aber nahezu in Wegfall, wenn man derartige Objecte einbettet und mit Zuhilfenahme des Mikrotoms (s. u.) schneidet. Ein Nachtheil aller Einbettungsmethoden besteht ja freilich darin, dass sie sehr zeitraubend und umständlich sind; allein was wiegen diese Umständlichkeiten gegen einen solchen gelungenen Schnitt? Wir dürfen aus eigener Erfahrung die nachfolgenden Arten des Einbettens den Botanikern auf das Angelegentlichste empfohlen.

1. *Einbetten in Glycerin-Gelatine.* Hierzu eignet sich jedes Material, sowohl frisches wie solches, welches in einer der p. 101 bis 103 genannten Flüssigkeiten gehärtet und fixirt wurde. Es kann aus Wasser, Alkohol oder Alkohol-Glycerin zur Einbettung verwandt werden. Das einzubettende Stück nimmt man nicht grösser als nothwendig, wäscht es mit Wasser ab und durchtränkt es zunächst mit Glycerin. Widerstandsfähige Objecte bringt man sogleich in ziemlich concentrirtes Glycerin, worin sie mindestens einen Tag lang, bisweilen wochenlang verweilen sollen, bis man der Durchtränkung mit Glycerin ganz sicher ist. Sehr zarte Objecte, die durch Einwirkung starken Glycerins schrumpfen würden, legt man in ein Uhrgläschen in sehr verdünntes Glycerin und stellt sie für längere Zeit in einen Chlorcalcium-Exsiccator. In dem Maasse, wie von dem Chlorcalcium Wasser entzogen wird, concentrirt sich das Glycerin, und man kann auf diese Weise selbst die difficilsten Pflanzentheile ohne Schrumpfung mit demselben durchtränken. Das so vorbereitete Material kann nun in die Gelatine-Mischung übertragen werden. Ich benutze zwei verschiedene Gemische:

| | I. | II. |
|---|---|---|
| Gelatine . . . . . . . | 1 Gewth. . . | 1 Gewth. |
| Wasser, destillirt . . . . | 6 „ . . | 3 „ |
| Glycerin, concentrirt . . | 6 „ . . | 6 „ |

Die Gelatine wird in dem warmen, aber nicht kochenden Wasser allmählig gelöst, das Glycerin zugesetzt, etwa 10 Minuten lang erwärmt (bei ca. 60°), das Gemisch dabei fortwährend umgerührt und endlich durch feuchte Glaswolle filtrirt. Sollen die Gemische längere Zeit aufbewahrt werden, so ist eine Spur Carbolsäure oder Thymol zuzufügen. Am besten werden sie in weite Reagenzcylinder gefüllt, in denen sie sich durch Erwärmen bequem verflüssigen lassen. Das Gemisch I ist zum Einbetten für zartere, II für robustere Pflanzentheile bestimmt.

Man überträgt das einzubettende Organ aus dem Glycerin zunächst in das Gemisch I. Dieses befindet sich in einer kleinen Porcellanschale, welche sich mit einer passenden Glasplatte bedecken lässt und welche längere Zeit hindurch einer Temperatur von 40 bis 60° ausgesetzt werden muss. Am bequemsten geschieht dies in einem mit Thermoregulator versehenen Wärmeschranke, der sich durch den Regulatur lange Zeit genau auf demselben Wärmegrade erhalten lässt; doch kann man sich auch mit einer erwärmten Ofenplatte, bei häufigem Nachsehen selbst mit Wasserbad, Spirituslampe und Dreifuss behelfen. In der erwärmten, also flüssigen Gelatine verbleibt das Organ eine halbe bis einige Stunden, d. h. so lange, bis die Gelatine alle etwaigen Hohlräume, wie sie sich z. B. bei jungen Blütenknospen u. dergl. finden, durchdrungen hat. Man ist dadurch gesichert, später zusammenhängende Schnitte zu bekommen. Nicht immer ist es nöthig, dass die Gelatine auch das Zellengewebe durchdringt; ist dieses angezeigt, so muss ihre Einwirkung entsprechend verlängert werden. Bei robusten, verholzten Organen wird es dann bisweilen sogar nöthig, dieselben in der erwärmten Gelatine einen Tag lang im Vacuum zu halten (Vinassa).

Jetzt erst können wir zum eigentlichen Einbetten schreiten. Ich verfahre so: Aus Schreibpapier, das man vorher mit erwärmtem Wachs dünn überstrichen hatte, wird ein kleines Kästchen hergestellt, so dass der Wachsüberzug die Innenwände des Kästchens bedeckt. Die Fugen werden äusserlich mit Wachs verstrichen. Man stellt es auf eine auf dem Tische liegende Glasplatte und giesst erwärmte, flüssige Glycerin-Gelatine hinein (Gemisch I oder II, je nach dem einzubettenden Organ), so dass es bis Eindrittel oder zur Hälfte seiner Höhe damit erfüllt ist. Ist diese Gelatineschicht fest geworden, so überträgt man mit Nadel, Lanzette oder Pincette das einzubettende Organ aus der erwärmten Gelatine I, in der es bislang lag, direct auf die erkaltete Gelatineschicht. Dabei braucht es nicht weiter orientirt zu werden. Man wartet einen Augenblick und giesst das Kästchen mit demjenigen Gelatinegemisch

voll, von dem man die untere Schicht hergestellt hatte. Man lässt darauf eine halbe bis eine ganze Stunde erkalten.

Nunmehr muss der das Object enthaltende Gelatineblock gehärtet werden. Das geschieht durch einfaches Einlegen des Blockes in absoluten Alkohol. Man löst zunächst das Papierkästchen ab, was sehr leicht bewerkstelligt werden kann, da es wegen des Wachsüberzuges kaum an der Gelatine haftet. Sonst hilft man mit einem Scalpell ein Wenig nach. Den vom Kästchen getrennten Block bringt man in eine kleinere, mit Deckel zu verschliessende Glasdose, die so viel absoluten Alkohol enthält, dass der Block ganz davon bedeckt wird. Hierin muss er je nach seiner Grösse, je nach dem angewandten Gelatinegemisch und je nach der Schnittfähigkeit des eingebetteten Objectes längere Zeit verweilen, 6 bis 24 Stunden und länger. Man kann ihn probeweise hervorholen und auf seine Schnittfähigkeit prüfen. Diese ist in den meisten Fällen die beste, wenn der Fingernagel einen einige Minuten bleibenden Eindruck auf dem Blocke hervorbringt. Der Gelatineblock hat nunmehr von seiner Durchsichtigkeit eingebüsst, er ist milchig-trübe geworden, er ist jedoch noch reichlich durchsichtig, um das eingebettete Object deutlich erkennen zu lassen. Ist der Block sehr gross, so muss der härtende Alkohol einige Male gewechselt werden.

Der Block wird nach vollendeter Härtung aus dem Alkohol hervorgeholt, mit Filtrirpapier abgetrocknet und beschnitten. Es geschieht am besten mit einem Scalpell und geht sehr leicht von Statten. Nur muss man sich erst daran gewöhnen, dass das Messer etwas plötzlich durch die erhärtete Masse dringt. Wir schneiden alle überflüssige Gelatine fort, wobei wir darauf Acht haben, das Object zugleich möglichst gut zu orientiren. Schliesslich behalten wir ein kleines Würfelchen von beiläufig 3 oder 4 mm Seitenlänge übrig. In der Mitte desselben befindet sich das eingebettete Organ derartig, dass dessen Längsachse zur Grundfläche des Würfelchens senkrecht steht. Wir kleben dieses Würfelchen sogleich, ohne es vorher in Alkohol zu übertragen, und wenn seine Grundfläche noch möglichst frisch ist, auf die Endfläche einer Hollundermarkstange fest. Das geschieht so: Mit einem erwärmten Glasstabe bringt man auf die Endfläche des Hollundermarks einen kleinen Tropfen Glyceringelatine Gemisch I, breitet ihn gleichmässig aus, fasst die Stange in der linken Hand, das Würfelchen mit einer Pincette in der rechten, zieht beide schnell einige Male durch eine kleine Spiritusflamme (Vorsicht! das Würfelchen brennt leicht an) und drückt es mit der Grundfläche fest auf das gelatinirte Ende. Es klebt nach einigen Augenblicken; man lässt noch etwas an der Luft liegen und

bringt dann das Ganze nochmals in absoluten Alkohol. Hat man schnell verfahren, so klebt das Würfelchen völlig fest an der Stange. Man kann nun die Schnitte ausführen, über deren Herstellung und Weiterbehandlung man die folgenden Capitel nachsehe. Ist es nicht möglich gleich zu schneiden, so muss das Würfelchen solange in absoluten Alkohol verbleiben; längeres Liegen an der Luft bewirkt, dass das im gehärteten Block enthaltene Glycerin Wasser aus derselben anzieht, und um die Schnittfähigkeit ist es dann bald geschehen.

2. *Einbetten in Gummi arabicum.* In einigen Fällen empfiehlt es sich, in eine Lösung von Gummi arabicum einzubetten. Empfehlenswerth ist diese Methode jedoch nur für kleine, zumal widerstandsfähige Gebilde, z. B. Pollenkörner, Stärkekörner u. dergl., von denen man Querschnitte oder Längsschnitte gewinnen will, nicht anzurathen ist sie für Gewebe. Das Gummi arabicum an sich ist jedoch viel zu spröde, um gut geschnitten werden zu können, und man muss ihm daher erst Glycerin zusetzen. Gutes Gummi verträgt einen Glycerinzusatz bis zu 10 Procent und erhärtet trotzdem an der Luft noch zu einer trockenen aber schneidbaren Masse. Man stellt eine brauchbare Gummimasse zum Schneiden auf folgende Weise her. Es werden 10 Gewichtstheile ausgesuchtes, möglichst farbloses Gummi arabicum und 1 Theil concentrirtes Glycerin in soviel Wasser mit ein Wenig Campher gelöst, dass die Masse sich noch bequem durch Glaswolle filtriren lässt. Das Filtrat bleibt, vor Staub geschützt, solange an der Luft stehen, bis es zu einer dickflüssigen aber noch nicht fadenziehenden Masse geworden ist. Das Verdunsten des Wassers lässt sich im Exsiccator natürlich beschleunigen. Von diesem dickflüssigen Glycerin-Gummi trägt man einige Lagen auf das ebene Ende einer Hollundermarkstange auf; jede einzelne Lage lässt man für sich trocknen. Dann knetet man in einem Uhrgläschen die einzubettenden, kleinen Objecte mit der Einbettungsmaase zu einem dicken Brei zusammen, trägt hiervon eine genügende Menge auf die getrocknete letzte Lage, lässt trocknen, überstreicht wieder mit der reinen Einbettungsmasse und lässt an der Luft ganz erhärten. Gewünschten Falles kann die Erhärtung auch durch Einlegen in absoluten Alkohol erreicht werden. Die eingebetteten Objecte sind dann schnittfähig.

3. *Einbetten in Celloïdin.* Die von SCHIEFFERDECKER für thierische Gewebe ausgesonnene Methode der Celloïdineinbettung ist der Gelatineeinbettung bezüglich der Folge der Manipulationen ähnlich und lässt

sich mit geringen Abänderungen auch für botanische Objecte bequem anwenden. — Käufliches Celloïdin wird in Spähne geschnitten und an der Luft so lange trocknen gelassen, bis es vollkommen hart, hornig geworden ist. Man übergiesst die Spähne in einem ganz trockenen Glasgefässe mit wenig Alkohol-Aether, d. h. mit einer Mischung von gleichen Theilen absoluten Alkohol und reinen Aether. Ein Theil des Celloïdins löst sich, der andere quillt nur. Die concentrirte Celloïdinlösung giesst man von dem Gequollenen ab und verdünnt mit dem gleichen Raumtheil Alkohol-Aether, wodurch man die Einbettungslösung (II) erhält. Verdünnt man dagegen jene concentrirte Celloïdinlösung mit 7 Theilen Alkohol-Aether, so erhält man die Durchtränkungslösung (I).

Die in Celloïdin einzubettenden Pflanzentheile müssen völlig frei von Wasser wie von Glycerin sein. Man wählt also hierzu älteres Alkoholmaterial (p. 101), oder man muss die in anderen Flüssigkeiten gehärteten Organe vor dem Einbetten längere Zeit in absoluten Alkohol übertragen. Dann wird das Material mehrere Tage lang in Alkohol-Aether gelegt und hierauf in die Celloïdinlösung I gebracht. Hier verweilt es mehrere Tage bis mehrere Wochen lang. Die Lösung befindet sich am besten in einer kleinen Glasdose, deren Deckel durch einen luftdicht schliessenden Kork ausgewechselt werden kann. Ist die Durchtränkung des Objectes mit Celloïdin sicher beendet, so vertauscht man den Korkstöpsel mit dem Deckel der Glasdose, legt diesen aber nicht festschliessend auf, sondern schiebt zwischen ihn und die Dose etwa ein Deckgläschen. Die Celloïdinlösung verdickt sich nun allmählig durch Verdunsten des Lösungsmittels, man setzt dem entsprechend von der Celloïdinlösung I nach und nach zu, so dass das Object stets von derselben eingeschlossen bleibt. Ist nach längerer Zeit die Verdunstung soweit vorgeschritten, dass das Celloïdin fest zu werden beginnt, so umschneidet man den Block in der Nähe der Glaswände um die Verdunstung auch im Innern desselben zu beschleunigen. Es erhärtet das Celloïdin nun allmählig soweit, dass man mit der Fingerspitze auf seiner Oberfläche keinen Eindruck mehr hervorbringen kann. Dann giesst man das Glasschälchen voll Alkohol von 70 Procent. Nach einigen Tagen wird dieser Alkohol abgegossen, der Celloïdinblock durch Umschneiden herausgeholt und in ein anderes Glasgefäss mit 50procentigem Alkohol gelegt. Hier erreicht er bald die Härte von Knorpel und ist somit schnittfähig, kann übrigens in dem 50procentigen Alkohol beliebig lange aufbewahrt werden.

Vor Ausführung der Schnitte beschneidet man den Block zunächst

in ähnlicher Weise, wie es oben bei der Glyceringelatine angegeben wurde. Das dadurch entstehende kleine Würfelchen mit dem eingebetteten Objecte wird hierauf ähnlich wie oben auf eine Hollundermarkstange festgeklebt. Man hatte vorher die ebene Endfläche einer Hollundermarkstange mit wenig Celloïdinlösung bestrichen, und letztere ist inzwischen völlig trocken geworden. Diese Fläche sowie die anzuklebende Grundfläche des Blockes drückt man zur völligen Abtrocknung gegen Filtrirpapier, bestreicht beide mit wenig Celloïdinlösung II, presst beide aneinander, kratzt das an den Rändern hervorquellende Celloïdin rasch ab, lässt einige Minuten an der Luft liegen und überträgt das Ganze bis zum Schneiden in 50procentigen Alkohol. — Die Weiterbehandlung der gefertigten Celloïdinschnitte wird später besprochen werden.

4. *Einbetten in Paraffin.* Die in Alkohol oder zur Fixirung des Plasmas in Chromosmiumsäure, Chromsäure oder Pikrinsäure gehärteten Organe werden (nach Moll) zunächst sehr gut ausgewaschen und sogleich in absoluten oder, um Schrumpfungen zu vermeiden, in schwachen, allmählig zu verstärkenden, schliesslich in absoluten Alkohol übertragen (vgl. p. 101). Dann bringt man sie für längere Zeit in ein Gemisch von gleichen Theilen Alkohol und Terpentinöl, darauf in reines Terpentinöl, in dem sie wieder einige Stunden verbleiben. Es folgt nun eine kalt gesättigte Lösung von Paraffin in Terpentinöl (bei 30 bis 40°); nach einer Stunde wird die Temperatur auf 50 bis 55° erhöht; schliesslich überträgt man den einzubettenden Gegenstand auf 6 bis 8 Stunden in reines geschmolzenes Paraffin in den Wärmeschrank. Man wählt eine Paraffinsorte, die bei etwa 50° schmilzt. Jetzt geht man an das Einbetten selbst. Man verfertigt ein kleines Kästchen aus Carton, stellt es in eine grössere Glasdose und giesst es voll geschmolzenes Paraffin; man bringt das nun ganz von Paraffin umgebene Object in dasselbe, giebt letzterem eine passende Lage und wartet kurze Zeit, bis das Paraffin soweit erkaltet ist, dass sich ein dünnes Häutchen auf dessen Oberfläche zeigt. In diesem Augenblicke übergiesst man mit kaltem Wasser, worauf das Paraffin sehr bald erstarrt. Man löst den Paraffinblock aus dem Kasten, beschneidet ihn und klebt ihn mit geschmolzenem Paraffin auf der Endfläche eines kleinen Korkes fest. Er ist nun schnittfähig.

Ist es nicht nöthig, dass das Object vom Paraffin gleichzeitig durchdrungen sei, so kann man nach Koch auch folgendermaassen verfahren. Eine Mischung von 1 Theil Paraffin und 1 Theil Talg (für

härtere Pflanzentheile) oder von 1 Theil Paraffin und 2 Theilen Talg (für weichere Organe) wird in dicker Lage auf die Endfläche eines kleinen Korkes oder dergl. aufgetragen. Nachdem diese fest geworden, giebt man noch einen grossen Tropfen der Schmelzmasse darauf und bringt das in Alkohol vorbehandelte, mit Fliesspapier leicht abgetrocknete Organ hinein, richtet es schnell mit einer Nadel und lässt erstarren, was nach wenigen Minuten geschehen ist.

5. *Einbetten in Seife.* Die kürzlich von PFITZER angegebene Methode der Seifeneinbettung ist ihrer Einfachheit wegen für viele Objecte sehr empfehlenswerth. Die Einbettungsmasse wird hergestellt, indem man ein Gemisch von gleichen Theilen Alkohol (96 %) und Glycerin auf dem Wasserbade bis etwa 70° erwärmt und soviel kleingeschnittene, durchsichtige Glycerinseife zusetzt als sich löst. Man kann statt letzterer auch den Sapo medicatus der Pharmakopöe verwenden und dünnere Seifengemische herstellen, z. B. durch Zusammengeben von 1 Th. Alkohol, 1 Th. Glycerin mit 1 oder 2 Th. Seife. Der Härtegrad der erkalteten Mischung richtet sich natürlich nach dem Gehalt an Seife, und man hat es daher völlig in der Hand, denselben dem zu präparirenden Objecte anzupassen. Zum Einbetten in das erwärmte Gemisch nimmt man Alkoholmaterial (p. 101); sollen die Objecte von der Seifenlösung ganz durchdrungen sein, so bringt man sie vorher auf längere Zeit in eine der obigen Mischung entsprechende, aber kalt gesättigte Seifenlösung. Die erkaltete Einbettungsmasse ist in verschlossenen Gefässen unbegrenzt haltbar, sie ist glashell, gestattet daher die genaueste Orientirung des eingeschlossenen Objectes. Letztere erhalten die grösste Schnittfähigkeit, wenn sie, in ihren Seifenblock eingeschlossen, längere Zeit im Chlorcalcium-Exsiccator liegen bleiben.

---

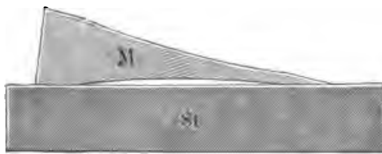
## V. Herstellung mikroskopischer Schnitte.

**A. Behandlung des Rasirmessers.** Zur Ausführung mikroskopischer Schnitte wird fast ausschliesslich das Rasirmesser verwandt, dessen wir bereits früher bei Aufzählung der von uns gebrauchten Werkzeuge gedachten (p. 91). Das Gelingen der Schnitte hängt grösstentheils von der untadelhaften Schärfe des Messers ab, und es ist daher angezeigt, wenn wir zunächst lernen, wie man eine derartige Schärfe herstellt und wie man dieselbe längere Zeit erhält.

Wenn das Messer ganz stumpf geworden ist und obendrein grössere Ausbrüche, sogenannte Scharten besitzt, so übergiebt man es am besten dem Instrumentenschleifer zur Instandsetzung, und es empfiehlt sich auch, vielgebrauchte Messer jährlich ein- bis zweimal von demselben behandeln zu lassen. Ist das Messer einmal scharf, so hat man darauf zu achten, dass es die Schärfe nicht so bald wieder verliere, und man erreicht das vermittels des Streichriemens. Dieses überall käufliche Instrument ist ja allgemein bekannt; weniger bekannt ist es, dass die verschieden eingerichteten Streichriemen sich bezüglich der herzustellenden Messerschneide sehr ungleich verhalten. Es giebt nämlich Streichriemen, deren Streichfläche auf einer festen Unterlage unbeweglich und horizontal ruht, und solche, deren Streichleder über einen Metallbügel frei ausgespannt ist, und das bei einem durch das Messer ausgeübten Druck unter entsprechender Biegung nachgiebt. Sei Figur 123 der Durchschnitt eines beiderseits mässig hohlgeschliffenen Messers, so giebt *a* ein Bild der Schneide desselben, wenn das Messer auf richtige Art geschliffen ist, d. h. die Schneide stellt den Spitzenwinkel eines gleichschenkligen Dreiecks dar, dessen Höhe durch den Querdurchmesser der Klinge, dessen Basis durch die Dicke des Messerrückens gegeben ist. In der Abbildung ist dieses Dreieck durch punktirte Linien angedeutet. Schärfen wir nun dieses Messer auf einem horizontalen und unveränderlich festen Streichriemen (*St* Figur 124), so behält das Messer *M* diese Schneide vollkommen bei, wenn es, mit derselben und dem Rücken gleichzeitig aufliegend, über den Riemen gezogen wird. Wenn wir dagegen einen sich auf Druck nach unten biegenden Streichriemen anwenden (*St* Figur 125), so wird sich das Messer *M* beim Darüberziehen entsprechend des Bogens, den das Streichleder bildet, abschleifen, und wir erhalten dementsprechend eine Schneide (*a*), deren Seiten keine gerade Linien sondern Convexitäten bilden. Sollen Messer, deren Unterseite eben ist (vgl. p. 91), über den Streichriemen gezogen werden, so empfiehlt es sich, eine von W. Walb, Heidelberg, gelieferte Abziehvorrichtung



123.

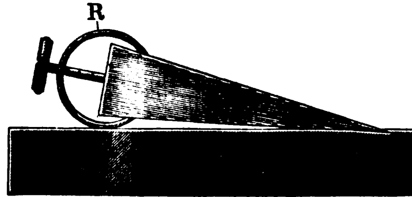


124.



125.

(Figur 126) anzuwenden, welche aus einer einseitig offenen Metallröhre *R* besteht, die mit ihrer Längsöffnung über den Rücken des Messers *M* geschoben und durch eine der Oeffnung gegenüberliegende Schraube an demselben festgeklemmt wird. Die Wirkung dieser Vorrichtung ist aus der Abbildung ohne Beschreibung verständlich.




126.

Wollen wir nun, z. B. nach Anfertigung einer Anzahl von Schnitten, das Messer auf dem Streichriemen abziehen, so verfahren wir folgendermaassen. Nachdem dasselbe von etwa daran haftender Flüssigkeit durch Abwischen gänzlich befreit ist, geben wir Klinge und Heft eine solche Stellung zu einander, dass sie ungefähr eine gerade Linie bilden. Wir fassen den Streichriemen am Stiel mit der linken Hand, das Messer mit der rechten, so dass der Daumen unterhalb der Kehle liegt und legen es, den Rücken voran, mit dem Vorderende der Klinge auf die Streichriemenfläche flach auf und führen es in dieser Stellung, also den Messerrücken von uns abgewandt, diagonal über die Streichfläche fort. Oben angekommen, drehen wir es auf dem Rücken um und ziehen es denselben Weg, den Rücken voran, wieder zurück. Das wiederholen wir 20- bis 40mal und haben dadurch gewöhnlich wieder eine untadelhafte Schneide erlangt. Es ist gar nicht nöthig, dass man dabei mit der imponirenden Schnelligkeit verfährt, welche den Barbieren gewöhnlich zu Gebote steht, im Gegentheil, eine langsamere aber sorgfältiger überwachte Bewegung führt viel sicherer zum Ziele. Die Barbiere behaupten ferner allgemein, man soll dabei die Klinge ziemlich steil gegen die Längsachse der Streichfläche geneigt halten; ich finde aber nach längerer Erfahrung, dass das Messer für unsere Zwecke brauchbarer wird, wenn die Klinge 45° gegen die Streichfläche geneigt ist.

Ist das Messer beträchtlich abgenutzt, z. B. nach zahlreichen Schnitten durch Hölzer, so muss man, um es wieder scharf zu bekommen, zum W a s s e r s t e i n greifen. Am energischsten wirken die Arkansas-Steine genannten, prächtigen Quarzsteine, minder kräftig die Steine von blauem oder gelbem Thon. Diese Schleifsteine werden zum Schärfen des Messers mit ziemlich viel Wasser benetzt; man fasst das Messer wie vorhin und zieht es auch in gleicher Weise über den nassen Stein, aber mit dem nicht zu vernachlässigenden Unterschiede, dass man nunmehr stets die Schneide voranführt. Auf diese Weise entfernt man kleinere

8*

Scharten aus demselben sehr bequem und ohne grossen Zeitverlust; mit der Lupe kann man sich zeitweilig von dem Fortschreiten der Arbeit Rechenschaft geben. Das seltener nothwendig werdende Abziehen des Messers auf dem Oelstein überlässt man am besten dem Instrumentenschleifer.

Hat man das Messer auf dem Streichriemen abgezogen, so hängen der Schneide die abgeschliffenen Partikelchen, der Grat, an. Diesen entfernen die Barbiere, indem sie die Messerschneide in senkrechter Stellung über den Fingernagel ziehen. Es ist aber viel besser, das Messer durch ein Stückchen weiches Hollundermark zu ziehen, welches den Grad ohne irgend welche Beschädigung der Schneide fortnimmt.

**B. Schnitte aus freier Hand.** Wenn unser Messer in Ordnung ist, so können wir zur Ausführung der Schnitte schreiten, und wir wollen zunächst sehen, wie wir es anstellen, wenn wir Schnitte aus freier Hand anfertigen wollen.



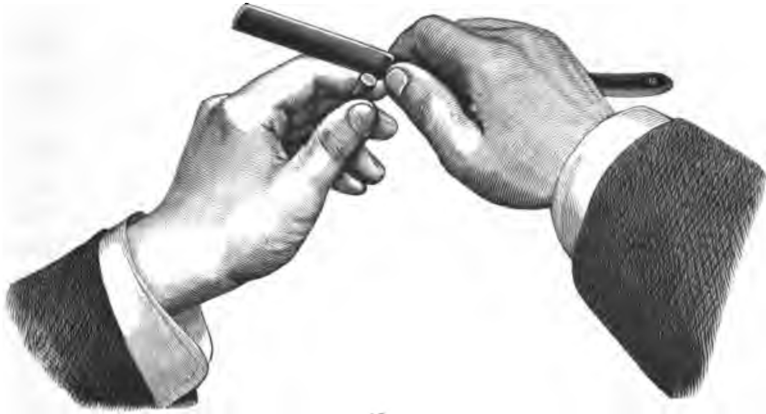
127.

Zunächst ist die Haltung des Messers nicht unwichtig. Wir fassen es mit der rechten Hand, in der Weise, wie es Figur 127 veranschaulicht. Dabei ist darauf zu achten, dass der Daumen bequem in der Kehle der Klinge ruht, und dass das Heft einen solchen Winkel zur Klinge bildet, um es mit den drei letzten Fingern mühelos festhalten zu können. Der Zeigefinger, der das ausgebildetste Tastgefühl besitzt, regulirt den beim Schneiden anzuwendenden Druck.

Es wird sich nur seltener ereignen, dass man pflanzliche Objecte trocken schneidet, d. h. mit trockener Messerklinge; gewöhnlich be-

feuchtet man diese mit Wasser, Alkohol oder Alkohol-Glycerin (p. 101). Die entsprechende Flüssigkeit hat man am besten in einem Becherglase vor sich stehen, um Messerklinge und Schnitt dann und wann in sie eintauchen zu können. Trocken schneidet man manche frischen Hölzer, Samen u. dergl., ferner die in Gummi arabicum, Paraffin und Seife eingebetteten Objecte, unter Wasser die meisten frisch zu präparirenden Organe. Das Alkohol-Glycerin-Gemisch wendet man zum Schneiden von Alkoholmaterial an, mit absolutem Alkohol schneidet man in Glyceringelatine eingebettete Organe, mit 70procentigem solche, die in Celloïdin eingebettet wurden. —

Als einfachsten Fall der Schnittführung wollen wir annehmen, dass wir einen Querschnitt durch einen frischen, widerstandsfähigen Pflanzenstengel, sagen wir durch den einjährigen Stamm der Linde zu legen



128.

haben. Wir fassen den mit vorläufiger Schnittfläche versehenen Stengel zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand, wie es Figur 128 zeigt und tauchen ihn in das mit Wasser gefüllte Becherglas. In der Rechten halten wir das Messer wie in Figur 127, dessen Klinge wir gleichfalls in Wasser getaucht haben, und setzen es mit dem unteren Klingenende auf den linken Zeigefinger auf (Figur 128). Den linken Arm stützen wir an die Seite des Brustkastens, der rechte bleibt im Schultergelenk frei beweglich. Nun üben wir auf das am Rande des zu schneidenden Objectes angreifende Messer einen gelinden Druck aus und ziehen es dergestalt durch den Stengel, dass das entstehende, feine Scheibchen nach der Schnittausführung auf dem oberen Ende des Messers liegt. Dieses Hindurchziehen der ganzen Messerschneide durch das Ob-

ject ist von grosser Bedeutung für das Gelingen der Schnitte. Wollten wir es einfach quer durch das Object hindurchdrängen, wie man etwa einen Keil in einen Holzklotz eintreibt, so würden wir nur sehr schlechte Schnitte erhalten, die mehr gequetscht als geschnitten wären. Diese werden im Gegentheil um so besser werden, je länger die angreifende Messerbahn ist, denn von der Länge dieser hängt die Kleinheit des Schneidenwinkels eines imaginären Keiles ab, der resultirt aus der Neigung der Messerseiten einestheils, der Länge der Messerbahn anderntheils und dem Querdurchmesser des zu schneidenden Objectes. Die Güte des Schnittes wächst mit dem Kleinerwerden des gedachten Schneidenwinkels.

Leider ist die Wirkung des Messers bei Herstellung mikroskopischer Schnitte bislang kaum theoretisch untersucht worden, obgleich zu erhoffen wäre, dass eine derartige Untersuchung Fingerzeige zumal für die Construction der Mikrotommesser geben könnte. Allerdings ist nur die höhere Mathematik im Stande, diese Fragen vollständig zu lösen, da das Torsionsmoment des Objectes, der Reibungscoëfficient der Klingenfläche, die Durchbiegungsgrösse des Messers und andere Dinge dabei zu berücksichtigen sind. Wenn auch daher solche Fragen in den Rahmen dieses Buches nicht hineingehören, so wollen wir hier doch an einem einfachen Beispiele zeigen, in wieweit man den Winkel des imaginären Keiles, der auf das Object einwirkt, verkleinert, indem man das Messer durch das letztere hindurchzieht. Wir wollen hierbei Verhältnisse wählen, die viel ungünstiger sind als es in Wirklichkeit der Fall ist. Der Einfachheit wegen nehmen wir ein keilförmiges Messer an (Figur 129), dessen untere Klingenfläche *abcg* zum Messerrücken *cdhg* senkrecht steht. Ist der Querdurchmesser von *abcg*, also *bc*, z. B. 21 mm lang, der Rücken *cd* 6 mm hoch, so würde, wenn wir das Messer quer durch das Object drücken, der Schneidenwinkel *dbc* auf das Object wirken. Dieser Winkel hat die Grösse von $15^0\ 56'\ 40''$. Nehmen wir dagegen an, die Messerschneide *ab* sei 75 mm lang, das zu durchschneidende Object habe einen Durchmesser von 3 mm, und wir zögen durch dasselbe das Messer von *a* bis *b* hindurch, so würde, wenn *bf* die Länge von 3 mm hat, der Schneidenwinkel eines imaginären Keiles auf das Object wirken, der annährend die Grösse von Winkel *fae* besitzt.



129.

Nach einer nicht schwer zu entwickelnden Formel der ebenen Trigonometrie lässt sich dieser Winkel leicht berechnen. Wir erhalten für denselben unter den oben angenommenen Verhältnissen die Grösse von 0° 37′ 20″. Mit anderen Worten, wir haben den auf das Object wirkenden Keilwinkel durch Hindurchziehen des Messers um das Fünfundzwanzigfache verringert. Verfolgen wir dieses Beispiel weiter, so wird uns auch sofort klar werden, welchen Einfluss eine grössere Verlängerung der Messerklinge auf die Keilwirkung derselben hat. Denn nehmen wir eine doppelt so lange Klinge (150 mm) an, indem alle anderen Verhältnisse dieselben bleiben, so berechnet sich der imaginäre Keilwinkel *fae* zu 0° 20′ 50″, d. h. er wird fast nochmal so klein als bei einer Klingenlänge von 75 mm. —

Nach dieser lehrreichen Abschweifung kehren wir nun zu unseren Schnitten zurück. Der auf der Spitze des Rasirmessers in der Schneide-Flüssigkeit flottirende Schnitt wird mit einer Lanzette, einem Pinsel oder einer Schnepfenfeder (p. 92, 93) abgehoben und in ein Uhrgläschen gebracht, in dem sich dieselbe Flüssigkeit befindet. Man begnügt sich nie mit einem einzigen Schnitte, sondern man stellt eine ganze Anzahl derselben her, um später den oder die gelungensten zur Untersuchung auswählen zu können. Gewöhnlich kommt es gar nicht darauf an, dass der ganze Stengel quer durchschnitten sei, meist ist es viel wichtiger, dass man nur einen Theil des Querschnittes gewinnt, dass dieser Theil aber recht dünn gerathe. Nur wo es sich um Constatirung der allgemeinsten, mit schwachen Vergrösserungen zu beobachtenden Verhältnisse handelt, hat man bisweilen ganze Querschnitte nöthig, und in diesem Falle kann man gewöhnlich dickere untersuchen. Sind genügend viele Schnitte fertig, so bedeckt man das dieselben enthaltende Uhrgläschen bis zur Weiterbehandlung (s. folgende Capitel) mit einem zweiten (Figur 117 a. p. 97) oder mit einer Glasglocke, um Staub abzuhalten und das Verdunsten der Flüssigkeit zu verhindern.

Lässt sich das Object mit den Fingern nicht fassen, so muss es nach einer der oben p. 104 bis 113 beschriebenen Weisen eingeklemmt oder eingebettet werden, und man fasst dann mit der linken Hand den umgebenden Kork oder die Hollundermarkstange. Kork und Hollundermark können in vielen Fällen dazu dienen, einen Stützpunkt für das Messer abzugeben, das Hollundermark wird jedoch meist gleichzeitig mit dem Objecte in Schnitte zerlegt.

Hat man Gegenstände zu schneiden, die besonders nach einer Richtung hin sich ausdehnen, sind z. B. Längsschnitte von Stengeln, Querschnitte durch Laubblattstücke zu gewinnen, so schneidet man stets

so, dass das Messer gegen die (kurze) Querachse des Objectes gerichtet ist. Man erhält auf diese Weise immer bessere und gleichmässigere Schnitte, als wenn man das Object seiner Längsachse entlang schneidet. Man würde also z. B. den in Figur 121 (a. p. 104) abgebildeten Stengel von rechts nach links schneiden, nicht von hinten nach vorn.

Manche kleine Gegenstände, Wurzelspitzen, Blütenknospen, Embryosäcke u. a. lassen sich jedoch auch ohne Einklemmung und ohne Einbettung auf folgende Weise schneiden. Man verfertigt von dem Object ein zu der Richtung, in der geschnitten werden soll, paralleles, ziemlich dickes Scheibchen, fasst dieses zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand, nimmt das Rasirmesser in die Rechte wie es Figur 130 zeigt, also mit senkrecht gerichteter Klinge, hält auch die linke Hand



130.

so, dass das Scheibchen senkrecht steht und zieht das Messer senkrecht zwischen Daumen und Zeigefinger der Linken langsam hindurch, wobei auch das Scheibchen durchschnitten wird. Es haften dann die Hälften des Objectes am Messer oder an den Fingern; das Durchschneiden wird mehrfach wiederholt, bis die resultirenden Schnitte dünn genug sind. Diese Art des Schneidens ist übrigens gar nicht leicht, erfordert viel Tastgefühl, setzt längere Uebung voraus und kostet in der ersten Zeit gewöhnlich auch etwas Haut. Messer, Object und die haltenden Finger sind natürlich mit der passenden Schneideflüssigkeit zu befeuchten.

**C. Schnitte mit dem Mikrotom.** Bei den Präparationen der Zootomen und der Anatomen werden Schnitte aus freier Hand nur sehr selten angefertigt. Die dort in Frage kommenden, thierischen Gewebe sind meistens so schwer zu schneiden, dass man maschinelle Vorrichtungen ersinnen musste, um die sich darbietenden Schwierig-

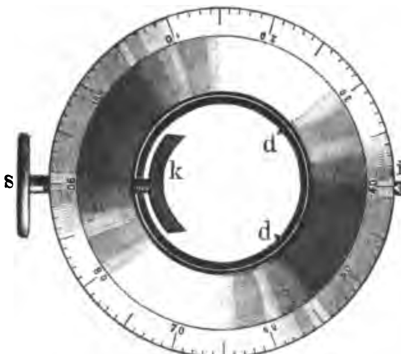
keiten zu bemeistern. Man construirte zuerst einfache, später immer complicirter werdende Schneidemaschinen, sogenannte Mikrotome. Für den Botaniker liegen hier die Verhältnisse weit günstiger. Sein Material ist gewöhnlich viel leichter zu bearbeiten, und er wird in den meisten Fällen mit Freihandschnitten vollauf auskommen. Der geringe Zeitverlust, den hierbei Vorbehandlung und Schneiden des Objectes beanspruchen, wird gegenüber der meist viel umständlicheren Anwendung des Mikrotomes den Freihandschnitten, wenn irgend angängig, den Vorzug geben. In gewissen Fällen aber, bei sehr delicaten Präparationen, bei Herstellung ununterbrochener Reihen von Schnitten wird auch der Botaniker mit Vortheil zum Mikrotom greifen, zumal Derjenige, den die Mutter Natur mit weniger Geschicklichkeit ausgestattet hat. Kommt es gar darauf an, Schnitte von einer gewissen Dicke herzustellen, so ist die Anwendung des Mikrotoms unbedingt nöthig, denn nur dieses gestattet es, den Schnitten eine gleiche und beliebig abzuändernde Dicke zu geben. Die älteren, einfacheren Formen der Mikrotome sind in den meisten Fällen für den Botaniker ausreichend; wir besprechen daher an erster Stelle einige dieser, wollen daran anschliessend aber auch einige complicirtere Formen beschreiben. Bei den ersteren pflegt das Messer aus freier Hand geführt zu werden, bei den letzteren wird auch die Bewegung des schneidenden Messers durch einen Mechanismus besorgt.

Eins der einfachsten und ältesten Mikrotome ist das Handmikrotom von Ranvier, welches später von Smith und Schiefferdecker vervollkommnet wurde und in dieser vervollkommneten Form in Figur 131 (Ansicht) und Figur 132 (von oben) dargestellt ist. Es besteht aus einem inneren Cylinder *c*, in welchem vermittels der beiden Schrauben *s* und *t* eine gebogene Platte *k* vorgedreht werden kann, die das in Kork eingelassene Präparat gegen die Spitzen *d d* presst, also im Cylinder fixirt. Oben ist an diesem Cylinder die Theilplatte *p* durch Schraubengewinde verstellbar; ein Index *i* lässt die Grösse der vollführten Drehung von *p* bestimmen. Der Index ist an einer über *c* geschobenen, federnden Hülse befestigt, um mit dem Höher- oder Tieferstellen von *p* nachgeschoben zu werden. Ist das Object in *c* eingespannt, so schraubt man soweit herab, bis *p* mit der Oberfläche des zu schneidenden Gegenstandes in einer Ebene liegt, und kann nun durch etwas weiteres Herabschrauben der Platte *p* und indem man deren Fläche als Messerführung benutzt, die Schnitte gewinnen. — Dieses Mikrotom leidet aber an zwei Uebelständen. Erstens muss es mit einer Hand gehalten werden, man hat also zum Schneiden nur eine Hand frei,

und zweitens hat die Schraube an *p* einen viel zu grossen Durchmesser, um eine gleichmässige Bewegung der Führungsplatte zu gestatten; die Schnitte fallen also nicht gleichmässig dick aus.




131.

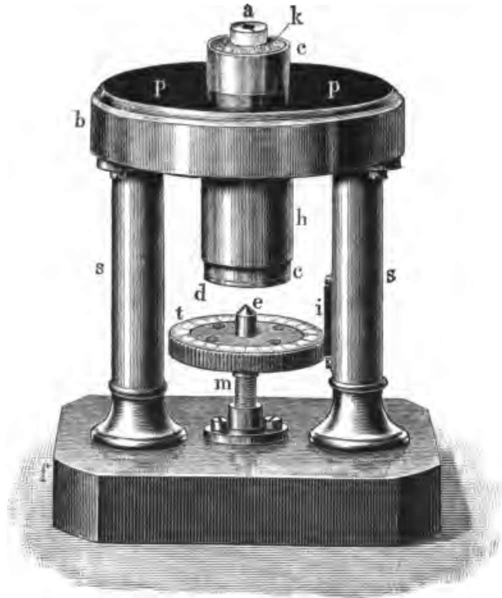



132.

Beide Uebelstände vermeidet das **Mikrotom von Zeiss**, welches im übrigen nach einem ähnlichen Principe construirt ist, mit dem Unterschiede jedoch, dass die Platte für die Messerführung unbeweglich ist, dagegen der das Präparat enthaltende Cylinder durch eine Mikrometerschraube gehoben wird.

Auf einem mit Blei ausgegossenen Messingfuss *f* (Figur 133) erheben sich zwei Messingsäulen *ss*, die oben die feste, horizontale Messingplatte *b* tragen, welcher auf der Oberseite die Platte *pp* von dickem schwarzen Spiegelglase aufgekittet ist. Diese und *b* sind in der Mitte durchbohrt, und letztere mit der Messinghülse *h* versehen, um den Messingcylinder *cc* in sich aufzunehmen, der in *h* gleitend verschiebbar ist. Der Cylinder *c* ist hohl und unten durch den abschraubbaren Deckel *d* verschlossen. Oben kann in ihm vermittels eines Korkes *k* (vgl. p. 106) das Hollundermarkstück *a*, welches den zu schneidenden Gegenstand enthält, befestigt werden. Zwischen *ss* ist eine senkrecht stehende Mikrometerschraube *m* angebracht, deren Achse oben in den Stahlconus *e* ausläuft, und die mit einer Trommeltheilung *t* versehen ist. Die Trommel ist in 100 Theile getheilt und spielt auf den Index *i* ein; da die Höhe der Umgänge der Mikrometerschraube je 1 mm beträgt, so wird die Spitze von *e* um 0·01 mm gehoben werden, wenn man *t* um einen Theilstrich verstellt. Will man nun von *a* Schnitte anfertigen, so dreht man *m* soweit herab, dass, wenn der Cylinder *c* bis

zur Berührung von *e* herabgezogen ist, die Oberfläche von *a* etwas tiefer liegt als die Glasplatte *p*. Die Glasplatte dient einem unten ebenen Rasirmesser (p. 91) als Führung, welches man mit freier Hand darauf bewegt. Durch Empordrehen von *t* und *e*, welches den Cylinder *c* berührt, bringt man es dahin, dass das horizontal aufliegende Messer das Object *a* gerade fasst, stellt eine provisorische Schnittfläche her, dreht *t* dann um soviele Theilstriche vor als die Schnittdicke in Hundertstel Millimeter betragen soll und führt den Schnitt durch langsames und gleichmässiges Hindurchziehen des Messers aus. Das Messer ist vorher mit der entsprechenden Flüssigkeit, unter der geschnitten werden soll, zu befeuchten; es schadet nichts, wenn die Glasplatte *p* durch diese benetzt wird. Auf das Object *a* wird nach jedem Schnitte mit einem Pinsel ein Tropfen der gleichen Flüssigkeit aufgetupft.

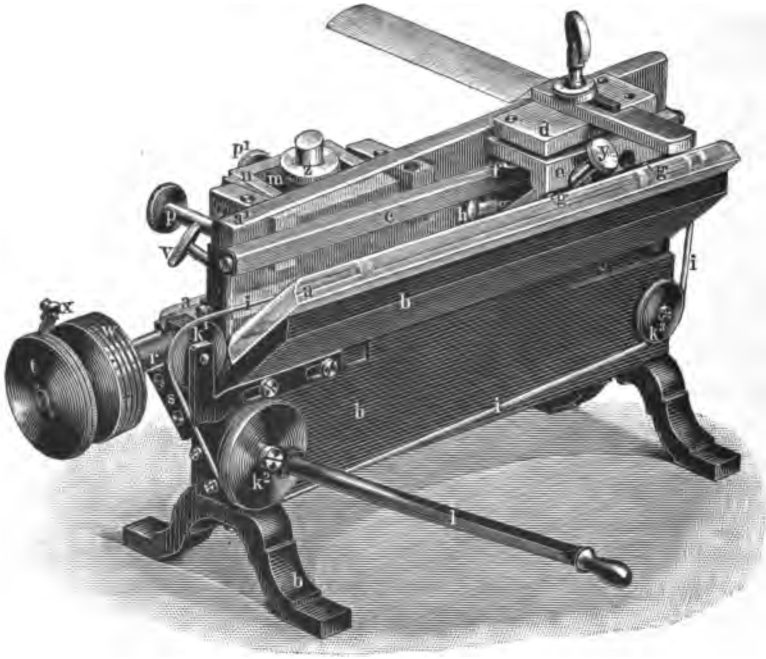


133.

Das Mikrotom von Spengel gehört zu den complicirter gebauten; es hat eine mechanische Messerführung, die allmählige Hebung des zu schneidenden Objectes wird durch Vorschieben auf einer schiefen Ebene bewerkstelligt.

Ein schwerer gusseiserner Fuss *bb* (Figur 134) trägt zwei dicke, ganz eben geschliffene Spiegelglasplatten, die eine ($a^1$) senkrecht, die andere ($a$) gegen diese im Winkel von etwa 45° geneigt. Sie dienen als Schlittenbahn für den Messerschlitten *e*, der vermittels acht Elfenbeinfüsschen *gg* auf ihnen ruht, und durch die Kurbel *l* hin- und herbewegt wird. Diese Bewegung vermittelt die Darmsaite *i*, welche an dem Schlitten befestigt ist, und die über die Führungsrollen $k^1 k^2 k^3$ läuft. Das Messer, eigens für diesen Zweck construirt, wird auf der

Platte $d$ mit einer Klemmschraube festgespannt. Durch die Einrichtung, dass der Messerschlitten mit seinen Elfenbeinfüssen auf dem Spiegelglase schleift, wird ein sehr sanfter Gang ermöglicht, ohne dass es nöthig wäre, irgend welches Schmiermittel anzuwenden. An der Rückseite der Platte $a^1$ ist der Objectschlitten $n$ befindlich, der in einer Hülse $z$ das zu schneidende Object trägt. Er ist auf einer, in der

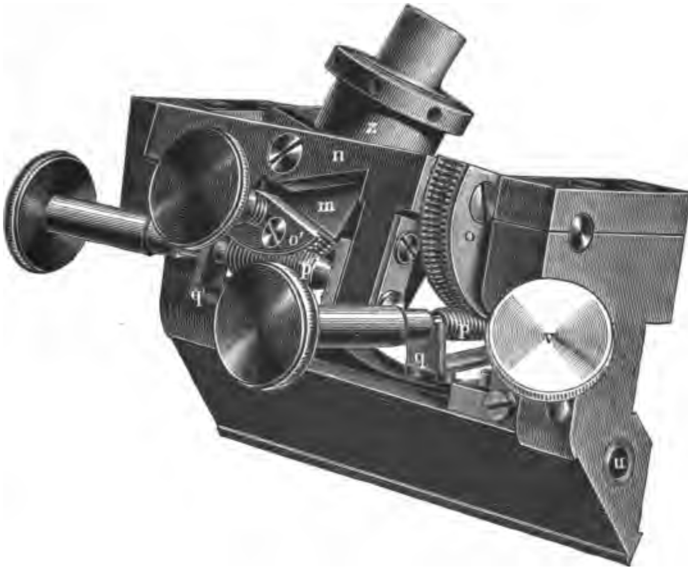



134.

Figur nicht sichtbaren, schief ansteigenden Bahn verschiebbar. Diese Verschiebung wird durch Drehen des Kopfes $t$ der Mikrometerschraube $r$ bewerkstelligt. Die Grösse der vollführten Umdrehung von $r$, von welcher die Schnittdicke abhängig ist, giebt eine Einschnapp-Vorrichtung $x$ $w$ an; dieselbe ist so construirt, dass die Trommel $w$ mit fünf verschiedenen Systemen von Löchern versehen ist, in die die Feder $x$ beim Vordrehen eindreift; auf eins dieser Systeme lässt sich $x$ leicht verstellen, und sie entsprechen Schnittdicken von 0·25, 0·16, 0·01, 0·005 und 0·001 mm.

Der Objectschlitten, welcher in Figur 135 für sich etwa in natürlicher Grösse abgebildet ist, besitzt eine, freilich nicht ganz ein-

fache Einrichtung, um das zu schneidende Object zu **orientiren** (vergl. p. 90). Dasselbe ist — am besten fest in Celloïdin, Paraffin oder sonstwie eingebettet (vergl. p. 107—113) — in *z* eingelassen und kann an dem vorstehenden Rande von *z* um sich selbst gedreht werden. Der Cylinder *z* ist fest mit einem viereckigen Rahmen *m* und der Gewindescheibe *o'* verbunden, in die *p'*, eine Schraube ohne Ende, eingreift. Durch Drehen an dem Knopfe von *p'* nimmt *m* eine mehr oder weniger geneigte Stellung ein. Der Rahmen *m* (und die Führung *q'* der Schraube *p'*) befindet sich in dem gleichfalls beweglichen Rahmen *n*, dessen Bewegung durch die Gewindescheibe *o* und die Schraube ohne




135.

Ende *p* vermittelt wird, die in der Führung *q* ruht. Diese Bewegung ist jedoch senkrecht zu der des Rahmens *n*. Es leuchtet nun ein, dass man durch Drehen an *z* und Schrauben an *p* und *p'* dem Objecte jede gewünschte Lage zu geben vermag. Der Vollständigkeit wegen muss noch erwähnt werden, dass *u* zur Aufnahme eines soliden Stahlstabes bestimmt ist, der die Verbindung des Objectschlittens mit der Mikrometerschraube *r* (Figur 134) darstellt; durch die Schraube *v* wird dieser Stab am Objectschlitten befestigt.

Eine von den obigen sehr abweichende Construction besitzt das **Mikrotom** von Minot, welches zur Herstellung einer ganz bestimmten Art von Schnitten, den sogenannten **Schnittbändern**, dient. Solche

Schnittbänder lassen sich nur aus in Paraffin eingebetteten Objecten gewinnen, und auch nur dann, wenn das Messer nicht, wie oben (p. 117 f.) beschrieben, durch das Object hindurchgezogen, sondern wenn es senkrecht durch dasselbe hindurchgedrückt wird. Dann verkleben — ein besonders präparirtes Paraffin vorausgesetzt — die einzelnen Schnitte, die man auf der Messerklinge liegen lässt, mit ihren Rändern aneinander, wodurch ein mehr oder minder langes Band entsteht, in welchem sich die Schnitte, der Reihe nach geordnet, finden. Wo man z. B. den Verlauf von Gefässbündeln und Aehnliches zu studiren hat, ist die Herstellung von Schnittbändern viel zeitsparender und bequemer, als die Anfertigung nicht zusammenhängender, zu numerirender Schnitte.

Man bettet das zu schneidende Organ nach der oben (p. 112) beschriebenen Methode in Paraffin ein, dessen Schmelzpunkt bei etwa 50° liegt. Dieses Paraffin wurde vorher in einer Porzellanschale solange (mehrere Stunden) erhitzt, bis es, nach Entwicklung unangenehm riechender weisser Dämpfe, in eine braungelbe, wachsartige Masse verwandelt wurde, die erkaltet ein seifiges Aussehen annimmt[1]. Den Paraffinblock mit dem Objecte beschneidet man auf das geringste Maass, um die Schnitte möglichst nahe neben einander zu bekommen, jedoch so, dass seine Grundfläche ein Quadrat oder Rechteck mit ganz ebenen Seiten bildet. Nur in diesem Falle haften die Schnitte sicher aneinander.

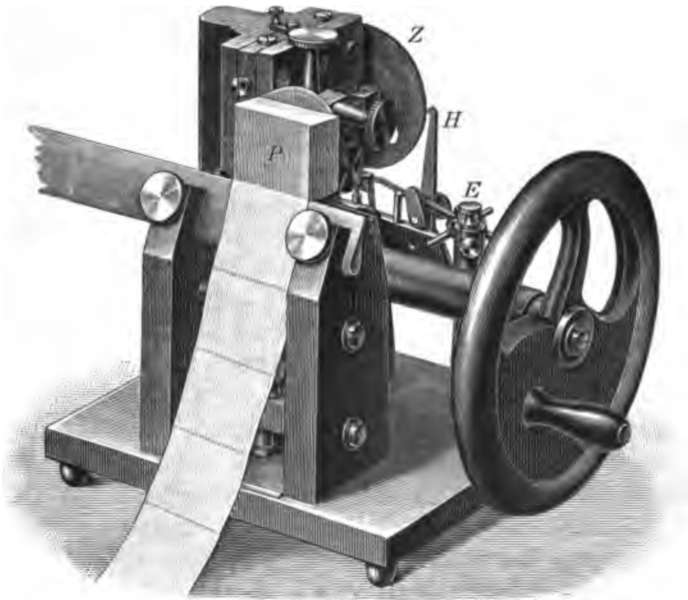
Bei dem Mikrotom von Minot (Figur 136) wird dieser Paraffinblock *P* auf eine senkrecht stehende, kreisrunde Kittplatte festgeschmolzen, welche durch zwei in der Figur sichtbare Schrauben gegen das gerade unter ihr befindliche Messer orientirt werden kann. Das Messer ist auf zwei soliden Trägern durch Schrauben fest eingespannt, also unbeweglich. Durch Drehen des rechts sichtbaren Schwungrades wird die Kittplatte und der Paraffinblock in senkrechter Schwalbenschwanzführung auf- und abbewegt und der Block durch das Messer gedrückt. Ist dies geschehen, so schiebt sich durch eine Weiterbewegung des Schwungrades die Kittplatte automatisch um ein Geringes (entsprechend der gewünschten Schnittdicke) vor. Der Anschlagstern *E* hebt nämlich einen Hebel *H* aus, welcher in ein Zahnrad *Z* eingreift, das eine auf die Kittplatte wirkende Mikrometerschraube vordreht, bis der Hebel wieder einschnappt. Je nachdem man einen längeren oder kürzeren Draht von

---

[1]) Nach Graf F. Spee. Genaues über die Gewinnung von Schnittbändern sehe man in dessen Abhandlung: Leichtes Verfahren zur Erhaltung linear geordneter, lückenloser Schnittserien mit Hilfe von Schnittbändern (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. II, 1885, p. 7 ff.).

*E* auf *H* wirken lässt, ist die Drehungsgrösse des Rades *Z* verschieden, sie entspricht Schnittdicken von 0·003 bis 0·02 mm. — Die Abbildung zeigt den Paraffinblock *P* theilweise in ein Schnittband aufgelöst.

Man kann natürlich auch mit einem Mikrotom anderer Construction Schnittbänder erhalten, wenn man die Bedingungen den hier beschriebenen möglichst ähnlich gestaltet. Bei dem oben abgebildeten




136.

Spengel'schen Mikrotom würde man also das Messer etwa so zu stellen haben, wie es Figur 134 zeigt, d. h. senkrecht zu dem zu schneidenden Objecte.

Es sind in der Neuzeit sehr viele und nach verschiedenen Principien construirte Mikrotome gebaut worden. Es konnten hier nur — gleichsam als Beispiele — einige wenige Formen dieses von dem Botaniker seltener angewandten Instrumentes beschrieben werden. Wir glauben aber, dass es dem Interessenten möglich werden wird, sich an der Hand dieser wenigen Beispiele auch die Construction und die Wirkungsweise der übrigen, doch immerhin ähnlichen Mikrotome klar zu machen.

---

# VI. Herstellung von Präparaten durch Maceriren, Isoliren, Glühen, Entkalken und Verdauung.

Während, wie wir im vorigen Capitel sahen, die meisten Präparate mit Schneide-Instrumenten hergestellt werden, lässt sich eine beschränkte Anzahl auf andere Weisen gewinnen, welche die Benutzung des Messers nicht voraussetzen. Wir wollen die hierher zu rechnenden, häufiger angewandten Methoden der Reihe nach durchgehen.

**A. Präparate durch Maceration.** Die Herstellung von Präparaten durch Maceration beruht darin, dass man auf den zu präparirenden Pflanzentheil gewisse Agentien einwirken lässt, welche einzelne Bestandtheile desselben zerstören, dadurch die übrig bleibenden ganz oder theilweise ausser Zusammenhang bringen und sie auf diese Weise der mikroskopischen Beobachtung zugänglich machen. Solche Agentien sind:

1. *Wasser.* Kocht man zartere Pflanzentheile kürzere oder längere Zeit in Wasser, so lässt sich dadurch häufig die Ablösung gewisser Gewebetheile erreichen (Epidermis von Laubblättern). Wo ein anhaltendes Kochen angezeigt ist, kann man zweckmässig ein Blechgefäss anwenden, in welches eine lange, weite Glasröhre eingelassen ist. Das verdunstende Wasser verdichtet sich in letzterer wieder und fliesst in das Gefäss zurück, so dass ein Nachfüllen nicht nöthig wird.

2. *Kälte.* Um die Zellelemente aus dem Fruchtfleisch weicher Früchte und in ähnlichen Geweben zu trennen, kann man diese Gebilde in einem dünnwandigen Glascylinder einer niedrigen Temperatur aussetzen, die sich künstlich z. B. sehr leicht durch Uebergiessen von 3 Th. Glaubersalz mit 2 Th. verdünnter Salpetersäure herstellen lässt. Diese Kältemischung liefert eine Temperatur von —10° C., deren Einwirkung bereits nach kurzer Zeit zu dem gewünschten Ziele zu führen pflegt.

3. *Schulze's Macerationsgemisch.* Wo es gilt, harte Pflanzentheile, zumal verholzte Gewebe, in die Elemente aufzulösen, ist das energisch wirkende, aus Kaliumchlorat und Salpetersäure bestehende Macerationsgemisch von Schulze anzuwenden. Man bringt dünnere Längsschnitte des Holzes oder dünne, mit dem Taschenmesser hergestellte Spähnchen desselben in einen Reagenzcylinder, giebt etwa das gleiche Quantum Kaliumchlorat zu und übergiesst mit 1 bis 2 cc

starker Salpetersäure. Nun wird über einer kleinen Flamme mehrere Minuten lang bis zur Gasentwicklung gekocht; die Flüssigkeit wird gewöhnlich erst gelblich, dann wieder nahezu farblos. Wenn in dem Gemisch einzelne, mit blossem Auge sichtbare Holzelemente umherschwimmen, so giesst man das Ganze in eine grössere Porcellanschale mit Wasser aus, fischt einige, noch lose zusammenhängende Parthien des Holzes heraus und überträgt sie zum nochmaligen Auswaschen in eine weitere Portion Wasser. Durch das Gemisch wurde die die Zellen verbindende Mittellamelle in Lösung gebracht, und die Elemente von Holz und Bast: Bastfasern, Gefässe, Libriformfasern, Tracheïden, Holzparenchym etc. werden dadurch gelockert; sie können durch Zerzupfen leicht getrennt werden.

**B. Isoliren von Gewebetheilen.** Enge verbunden mit der Procedur des Macerirens, meistens im Anschluss an jenes zu üben ist die mechanische Trennung von Gewebetheilen. Durch die Maceration wird der Zusammenhang der letzteren ein lockerer, gewöhnlich ist derselbe aber noch nicht ganz gelöst, und man pflegt dann auf mechanischem Wege die Trennung zur vollständigen zu machen. Dies kann durch Schütteln, Zerzupfen, Zerquetschen geschehen.

Das Schütteln geschieht am bequemsten in Reagenzcylindern. In einen solchen überträgt man die z. B. durch Kochen in Wasser macerirten Pflanzentheile, füllt ihn zur Hälfte mit destillirtem Wasser, schliesst ihn mit einem Kork- oder Gummistöpsel und schüttelt so lange anhaltend, bis die Lostrennung in genügendem Maasse vollzogen ist.

Das Zerzupfen wird mit zwei Nadeln, Lanzetten oder Messerchen zu Wege gebracht, bei sehr zarten Dingen auch wohl durch Betupfen mit einem kleinen, weichen Pinsel. Es wird auf dem Objectträger in einem Tropfen Wasser oder einer anderen Beobachtungsflüssigkeit vorgenommen, meist, um den Vorgang genau verfolgen zu können, unter dem Präparirmikroskop (s. p. 91—4). Letzteres gestattet zugleich, den Objectträger auf dem Tische festzulegen und auch von unten zu durchleuchten, was übrigens bei hellen, gelblichen oder weisslichen Objecten besser unterbleibt. Mit der linken Nadel hält man den zu zerzupfenden Theil fest, mit der rechten sucht man ihn zu zerkleinern. Man beschädigt dabei natürlich die abpräparirten Stücke mehr oder minder, sind es aber z. B. längere Gefässzellen und dergl., so werden sie immer noch unverletzte, zur Beobachtung genügende Parthien aufweisen.

Das Zerquetschen dünner Pflanzentheile findet statt durch Ausübung eines andauernden oder intermittirenden Druckes auf das unter Deckglas oder zwischen zwei Objectträgern in Flüssigkeit liegende Object. Diesen Druck kann man ausüben mit einem Holzstäbchen, etwa mit dem Holzgriff einer Präparirnadel, oder, wenn er länger andauern und allmählig verstärkt werden soll, durch ein Compressorium, welches bereits auf p. 53 beschrieben wurde. Man hat auch Compressorien construirt[1], durch welche vermittels fortwährenden Klopfens Pflanzenstücke oder niedere Organismen in einzelne Theile zerlegt werden. — Die Methode des Zerquetschens bleibt immer eine rohe, nur mit grosser Vorsicht zu verwendende. Wo man sich aber vorläufig vergewissern will, ob ein kleiner Pflanzentheil geeignet ist, durch Ausführung von Schnitten günstiges Beobachtungsmaterial zu liefern, da mag man ihn immerhin aufhellen (s. u.) und sich durch Zerquetschen einen ersten Einblick in seine Structurverhältnisse verschaffen.

**C. Präparate durch Einäschern und Glühen.** Einige in den Pflanzen vorkommende Körper widerstehen der Verbrennung der organischen Substanz und können dadurch sowie durch Glühen von derselben getrennt werden. Dieses gilt besonders für die verbreitete Kieselsäure, welche mehr oder minder zusammenhängende Oberflächenskelette auf gewissen Pflanzen (Diatomeen, Desmidiaceen, Equisetenstengeln, Grasblättern) bildet. Um diese zusammenhängend zu gewinnen, empfiehlt es sich, zunächst durch Einwirkung von Säuren oder dem Schulze'schen Macerationsgemisch (p. 128), denen die Kieselsäure gleichfalls widersteht, die organische Substanz thunlichst zu entfernen, um beim späteren Glühen einem Braunwerden des Skelettes vorzubeugen. So lässt sich z. B. das Kieselskelett von Equisetum sehr schön gewinnen, wenn man abgetrennte Stücke der Epidermis zuerst mit dem Schulze'schen Gemisch behandelt bis sie gelblich-weiss geworden sind, auswäscht, sie auf ein Platinblech oder ein Glimmerblättchen legt, hier noch einen Tropfen Schwefelsäure zufügt und über einer Spiritusflamme solange glüht, bis ein dünnes, zusammengekrümmtes Aschenhäufchen übrig geblieben ist[2].

---

[1]) Ein solches wurde von Jung beschrieben (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. I, 1884, p. 248).

[2]) Nach Miliarakis soll man zur Gewinnung von Kieselsäureskeletten das Glühen ganz unterlassen können, wenn man in einem geräumigen Glase das Object mit starker Schwefelsäure bis zum Schwarzwerden behandelt und dann 20procentige wässerige Chromsäure zufügt. Es findet starkes Aufbrausen statt;

Auch von Diatomeenpanzern lassen sich durch Glühen sehr wohl auf einfache Weise schnell Präparate erhalten; dieselben werden freilich nicht so schön, als wenn man sie nach den umständlicheren Methoden darstellt, welche man zur Reingewinnung des Materiales dieser zierlichen Organismen ersonnen hat (s. u.). Hat man an Fadenalgen oder höheren Wasserpflanzen günstiges Diatomaceenmaterial entdeckt, welches man auf diese einfache Weise präpariren will, so streift man davon eine genügende Menge auf ein kleines, gereinigtes, rundes Deckglas, giebt einen Tropfen Salpetersäure hinzu und kocht, indem man das Deckglas, mit dem Object nach oben, auf ein Platinblech legt, bis zum völligen Verdunsten der Säure. Dann bringt man einen Tropfen Schwefelsäure darauf, welche man gleichfalls durch Kochen verdunsten lässt. Man schwenkt nun vermittels einer Pincette das Deckglas einige Male durch destillirtes Wasser, glättet das Platinblech, so dass es keine Erhöhungen und Vertiefungen mehr enthält, legt das Deckglas, das Object nach oben, flach auf und erhitzt bis zur Rothgluth. Das Erkalten hat sehr langsam und vorsichtig zu geschehen, weil sonst das Deckglas leicht springt; ebenso muss das Platinblech rein sein, sonst haftet während des Glühens das Glas an ihm fest. Die Kieselpanzer sind nun an das Gläschen angeschmolzen; man bepinselt es mit Alkohol, dann mit Nelkenöl und schliesst, wie später beschrieben werden wird, in Canadabalsam ein.

**D. Entkalkung und Entkieselung.** Bisweilen ist es bei Pflanzen, die an der Oberfläche oder im Innern grössere Mengen kohlensauren Kalkes ablagern, geboten, diesen zu entfernen, sei es, dass er wegen seiner Undurchsichtigkeit den Einblick in das Innere der Pflanze verhindert, sei es, dass er bei Ausführung von Schnitten dem Messer verderblich wird. Da das Calciumcarbonat in fast allen Säuren löslich ist, so kann es durch Einwirkung dieser sehr leicht entfernt werden. Soll die Entkalkung etwa bei Alkoholmaterial und bei im Zellinnern befindlichen Kalkausscheidungen (Cystolithen) langsam vor sich gehen, so wendet man sehr verdünnte Säuren an, welche die Entfernung in 2 bis 4 Wochen zu Wege bringen. Als solche sind z. B. zu empfehlen 0·1- bis 1procentige Chromsäure oder ein Gemisch von Chrom- und Salpetersäure (Fol) von folgender Zusammensetzung:

---

hört dies auf, so füllt man das Glas mit destillirtem Wasser und lässt stehen. Die Kieselskelette finden sich nun auf dem Boden des Gefässes und werden aus dem pulverigen Bodensatz herausgesucht. — Verf. hat auf diese Weise trotz mehrfacher Versuche leider keine günstigen Resultate zu erzielen vermocht.

Chromsäure (1procentig) . . . . . . . . . . . . . 70 cc
Salpetersäure (30procentig; spec. Gew. = 1·185) . . . 3 „
Wasser, destillirt, . . . . . . . . . . . . . . . . 200 „

welches in 3 bis 4 Wochen z. B. Cystolithen im Zellinnern löst, ohne die Gewebe nennenswerth anzugreifen.

Will man dagegen oberflächliche Kalkschichten schnell zur Lösung bringen (Chara, Corallineen), so wendet man Salzsäure (5- bis 50procentig; Graf Solms) oder Salpetersäure (5- bis 10procentig) oder ziemlich concentrirte Essigsäure an, die die Schicht unter lebhafter Kohlensäureentwicklung lösen.

Wenn Kieselsäure-Ausscheidungen entfernt werden sollen, so bringt man das betreffende Material, etwa Diatomeen, nach Strasburger in einen Platintiegel, fügt wenig Fluorwasserstoffsäure zu und lässt 24 Stunden lang im Wasserbade stehen. Fast noch bessere Resultate erzielt man, wenn man zu den in Alkohol liegenden Objecten die Flusssäure tropfenweise zusetzt.

**E. Präparate durch Verdauung.** Es ist eine seit lange bekannte Thatsache, dass man, ähnlich wie es bei der Keimung und anderen Lebensprocessen der Pflanze stattfindet, künstliche Corrosionspräparate von Stärkekörnern herstellen kann, indem man gewisse Fermente auf dieselben einwirken lässt. Nach Nägeli wird durch diese die „Granulose“ ausgezogen und nur die ein zartes Gerüst bildende „Stärkecellulose“ bleibt übrig. Zu diesem Zwecke behandelt man Stärke mit Speichelflüssigkeit oder schwacher Pepsinlösung in kleinen Reagenzcylindern, oder mit Pankreatin, welches käuflich zu haben ist, und von dem man eine kalt gesättigte, wässerige, filtrirte Lösung verwendet. Diese Verdauungsflüssigkeit lässt sich wahrscheinlich auch benutzen, um zartere Zellgewebe in die Bestandtheile aufzulösen.

Um durch künstliche Verdauung das Hyaloplasma bei Zellkernen zu entfernen, digerirt Strasburger dieselben in Alkoholmaterial bei 35—40 ° C. etwa einen halben Tag lang in Wittig'scher Verdauungsflüssigkeit (von Dr. G. Grübler in Leipzig zu beziehen). Dieselbe besteht aus gleichen Theilen Pepsin-Glycerin und Pankreatin-Glycerin, welche mit der zehnfachen Menge Wasser versetzt und mit einigen Tropfen Salzsäure angesäuert wurden.

# VII. Weiterbehandlung der Schnitte.

Wenn wir uns eine Anzahl von Schnitten nach den auf p. 104—127 beschriebenen Methoden dargestellt haben, so werden wir nur in seltenen Fällen dieselben der mikroskopischen Beobachtung sogleich unterziehen können, meist werden sie noch einer weiteren Vorbehandlung zu unterwerfen sein.

**A. Entfernung der Luft.** Wir hatten (p. 119) die gefertigten Schnitte in ein Uhrgläschen in Wasser oder in eine andere Flüssigkeit gebracht und dieses, um Staub von denselben fern zu halten, mit einer Glasglocke bedeckt. Vor allem müssen wir uns nun vorerst unsere Schnitte mit der Lupe ansehen, um das ganz Missrathene von dem Besseren und Guten zu trennen. Zu dem Behufe stellen wir das Uhrschälchen auf ein weisses Cartonstück, das zur Hälfte mit schwarzem Papier beklebt ist, und sehen zu, ob wir die Schnitte am besten auf weisser oder auf schwarzer Unterlage finden können. Ist das Glas auf die passendste Unterlage gebracht, so werden wir mit der Lupe bald bemerken, welche Schnitte übermässig dick oder gar keilförmig ausgefallen, also völlig unbrauchbar sind. Diese entfernen wir mit einer Pincette, und wir behalten somit nur die besseren und guten zurück. Auch bei ihnen wird uns gewöhnlich schon die Lupenbetrachtung lehren, dass sie in manchen ihrer grösseren Zellen noch eine unangenehme Zugabe enthalten, nämlich Luftbläschen. Diese sind unter allen Umständen aus den Schnitten zu entfernen.

Am bequemsten findet die Entfernung der Luft mit einer Luftpumpe statt. Es dürfte sich in den meisten botanischen Laboratorien eine Quecksilber- oder Wasserstrahl-Luftpumpe vorfinden, unter deren Recipienten das Uhrglas mitsammt den Schnitten gestellt wird. Die Entfernung der Luft wird in spätestens einer Viertelstunde zu Wege gebracht sein. — Wo aber eine Luftpumpe nicht zur Verfügung steht, da lässt sich auch noch auf andere Weisen zu demselben Ziele gelangen.

Liegen die Schnitte in Alkohol, Alkohol-Glycerin (p. 101) oder vertragen sie überhaupt zeitweiliges Einlegen in Alkohol, dann ist die Sache sehr einfach. Man braucht die mit Alkohol durchtränkten Schnitte nur aus demselben hervorzuheben und in ein mit destillirtem Wasser gefülltes Uhrglas zu legen: Jeder Schnitt wird, sobald er mit dem Wasser in Berührung kommt, eine eigenthümliche, schnelle, kreisende Bewegung vollführen, sodann flach ausgebreitet zu Boden sinken und

nun im Innern von Luftbläschen befreit sein. Es scheint, dass auf diese Weise die Luft stets mit Sicherheit aus den Schnitten entfernt wird.

Schnitte, in denen Harz, Oele und andere Stoffe studirt werden sollen, lassen eine Behandlung mit Alkohol nicht zu, da derselbe jene Substanzen in Lösung überführen würde. Bei ihnen kann man zum Entfernen der Luft soeben ausgekochtes, wieder erkaltetes Wasser anwenden, in welchem man sie längere Zeit liegen lässt, damit sich die in ihnen enthaltene Luft allmählig auflöse. Das dauert natürlich längere Zeit, und es ist das Wasser auch mehrmals zu wechseln.

Auch durch Aufkochen in Wasser kann man, wenn die Schnitte widerstandsfähig genug sind, und die Umstände es erlauben, die Luft austreiben; häufig bleiben dann aber doch noch sehr kleine Luftbläschen zurück, welche erst nach und nach von dem erkalteten Wasser aufgelöst werden.

**B. Uebertragen auf den Objectträger.** Ist nun zu unserer Zufriedenheit die anhängende Luft aus den Schnitten entfernt worden, so übertragen wir zunächst einen derselben versuchsweise auf einen Objectträger. Wir nehmen einen Objectträger, putzen denselben in der Mitte recht blank, bürsten mit dem Pinsel etwaige Leinwandfasern ab und legen ihn neben das die Schnitte bergende Uhrgläschen. In einem Fläschchen wie die in Figur 113—115 (p. 96) abgebildeten haben wir sehr reines, in dasselbe hineinfiltrirtes, destillirtes Wasser, von welchem wir mit dem Stöpselstiel einen Tropfen herausheben und ihn mitten auf dem Objectträger ausbreiten. Es soll nicht mehr Wasser auf den Objectträger gebracht werden als nöthig, aber der Schnitt soll ganz davon bedeckt sein. Genügt also ein Tropfen nicht, so nehmen wir zwei. Nun wird der Schnitt übertragen. Wir heben ihn aus dem Uhrgläschen mit einer Schaufel (Figur 106), einem Pinsel (Figur 107) oder einer Schnepfenfeder (Figur 108) und streifen ihn davon mit einer Nadel oder einem Pinsel in den Flüssigkeitstropfen auf den Objectträger. Hier muss er zunächst flach ausgebreitet werden, denn meist wird er sich beim Uebertragen zusammengefaltet haben. Dabei leistet das Präparirmikroskop (p. 9—14) gute Dienste, auf dessen Tisch wir den Objectträger durch die Klammern festspannen und vermittels des Spiegels den Schnitt von unten beleuchten. Dann werden wir sogleich sehen können, ob der Schnitt zusammengefaltet ist oder nicht. Im ersten Falle gilt es zunächst, ihn flach auszubreiten. Wir müssen uns durch Wechsel der Einstellung überzeugen, ob die eingeschlagenen Ränder auf der Oberfläche oder an der Unterseite des Schnittes gelegen sind. Greifen

sie auf der Oberfläche über, so drücken wir den Schnitt mit einer in der linken Hand gehaltenen Nadel sanft fest, nehmen in die rechte eine Schnepfenfeder oder Lanzette und suchen mit diesen das umgeschlagene Stück umzuklappen. Gewöhnlich wird das bald gelingen; sehr sanfter Druck und ganz zarte Bewegungen sind nöthig um den Schnitt nicht zu verzerren oder ganz zu zerreissen.

Nach der Unterseite eingeschlagene Ränder lassen sich schwieriger hervorziehen und zurechtlegen: will es nicht gelingen, so entschliesst man sich wohl, den Schnitt nochmals auf einen anderen Objectträger zu übertragen. Dazu legt man am besten den alten Objectträger in eine so geräumige, mit Wasser gefüllte Porcellan- oder Glasschale, dass man durch Untertauchen desselben den Schnitt zum Flottiren bringen kann und beginnt das Uebertragen aufs Neue. Liegt nun der Schnitt gut ausgebreitet in seinem Wassertropfen, so lässt sich unter dem Präparirmikroskop auch sogleich feststellen, ob etwa unnütze Stücke von demselben abzupräpariren sind. Dieses hätte mit Lanzettnadeln (Figur 104 II) oder Präparirmessern (Figur 105 I, II) zu geschehen; die Anwendung von Scheeren setzt schon grössere und starre Präparate voraus.

Wir wollen nun den so vorbereiteten Schnitt mit einem Deckgläschen (p. 95) bedecken. Wollte man dasselbe auf gut Glück auf den Wassertropfen mit dem Schnitt legen, so würde man gewöhnlich einige grössere und kleinere Luftblasen als Zugabe mit erhalten, deshalb muss man es auch hierbei, wie überhaupt beim Mikroskopiren, an Sorgfalt nicht fehlen lassen. — Man fasst ein gereinigtes (p. 95) Deckglas mit einer in der rechten Hand gehaltenen Pincette, haucht es auf der Unterseite stark an und legt es (wir wollen annehmen, es sei viereckig) vorerst mit einer Kante auf den Objectträger, so dass sich der Wassertropfen zwar mitten unter ihm befindet, das Deckglas denselben aber noch nicht berührt. Die Pincette, welche das Deckglas an der jener Kante gegenüberliegenden gefasst hatte, wird nun geöffnet, so dass das Deckglas auf ihrer unteren Backe lose aufliegt, und durch allmähliges Senken dieser wird die Verbindung mit dem Wassertropfen hervorgebracht. Das Wasser breitet sich dann allmählig zwischen Deckglas und Objectträger aus; zum Schluss zieht man die Pincette fort und hat nun, falls die Sache gelungen ist, den Schnitt ohne Luftbläschen unter Deckglas. Ehe man das Deckglas auflegte, musste man sich übrigens davon überzeugen, dass der Schnitt gänzlich von Wasser bedeckt war, oder man musste durch gelindes Niederdrücken des Schnittes nachhelfen.

Hatte man Schnitte von eingebetteten (p. 107 ff.) Pflanzentheilen angefertigt, so befinden sich dieselben in einem dünnen Scheib-

chen des betreffenden Einbettungsmittels. Das letztere ist gewöhnlich vor der Uebertragung auf den Objectträger zu entfernen, und diese Entfernung hat je nach der Natur des Einbettungsmittels auf verschiedene Weisen zu geschehen.

Am einfachsten liegt die Sache bei den in Gummi arabicum (p. 110) eingebetteten Objecten. Bringt man die gefertigten Schnitte in Wasser von gewöhnlicher Temperatur, so wird das Gummihäutchen sehr schnell gelöst, und die Schnitte werden ohne weiteres Zuthun frei. Waren die eingebetteten Gebilde sehr klein, so lässt man die Lösung des Gummi im Wassertropfen auf dem Objectträger vor sich gehen; man behält dann Alles beisammen.

In gleicher Weise kann man die in Seife (p. 113) eingebetteten Schnitte von derselben befreien, verwendet man lauwarmes Wasser, so erfolgt die Lösung der Seife bedeutend schneller.

Bei den in Gelatine (p. 107) eingebetteten Schnitten ist zur Lösung der Gelatine stets erwärmtes Wasser anzuwenden; man legt das die Schnitte enthaltende Uhrgläschen auf das kleine Gestell Figur 109 und erwärmt über einer kleinen Spiritusflamme ganz gelinde.

Celloïdinschnitte (p. 110) überträgt man zunächst in ein Gemisch von Alkohol und Aether, worin sie längere Zeit zu verweilen haben. Dann werden sie in Alkohol und von diesem in destillirtes Wasser gebracht.

Bei Paraffinschnitten (p. 112) löst man das Paraffin zunächst durch Aether auf, überträgt dann in Alkohol und schliesslich in Wasser. War ein Gemisch von Paraffin und Talg angewandt, so erfolgt gewöhnlich durch Aether schon bei einer Temperatur von 15° C. eine Lösung, zuverlässig bei allen Talgsorten zwischen 20—25° C.

**C. Aufhellen von Schnitten.** Der auf dem Objectträger gut zurechtgelegte, mit dem Deckglase bedeckte Schnitt lässt sich nun mit dem zusammengesetzten Mikroskope — zunächst mit der schwächsten Vergrösserung — betrachten. Dabei wird sich zeigen, ob er zum sofortigen mikroskopischen Studium geeignet ist oder nicht. Es kann sich selbst bei den mit grösster Sorgfalt angefertigten Schnitten herausstellen, dass sie für mittlere oder stärkere Vergrösserungen doch noch zu undurchsichtig sind. In anderen Fällen sind flächige Pflanzentheile, z. B. Blattstücke, Farnprothallien oder Pollenkörner und Sporen zu untersuchen, welche von Natur für diesen Zweck zu undurchsichtig sind. Endlich tritt häufig der Fall ein, dass man das Zellgerüst eines Schnittes studiren will, dass sich aber der Beobachtung desselben massig angehäufte Zell-

inhaltsstoffe wie Stärke, Protoplasma, Oele, Harze, Milchsäfte sehr störend in den Weg stellen. In allen diesen Fällen ist es angezeigt, die Präparate durch Einwirkung gewisser Flüssigkeiten durchsichtiger zu machen, sie müssen aufgehellt werden.

Zum Durchsichtigmachen dickerer Schnitte, von Blattstücken, in denen etwa der Gefässbündel-Verlauf studirt werden soll, von Farnprothallien, von Sporen und Pollenkörnern sind zu empfehlen Kalilauge, Carbolsäure, Kreosot, Chloralhydrat oder Nelkenöl. Zarte Gebilde werden selbst in Glycerin allmählig durchsichtiger. STRASBURGER empfiehlt für Blätter auch ein Gemisch von Kreosot mit Terpentinöl (1 : 3) oder von Kreosot mit Alkohol (1 : 1). Chloralhydrat lässt sich in wässeriger Lösung oder in Glycerin gelöst anwenden; ist letztere concentrirt, so entsteht eine Flüssigkeit von einem für die Beobachtung mit Oelimmersionen sehr günstigen Brechungsindex (ungefähr 1·50; vgl. p. 23).

Wo zum Studium des Gewebegerüstes aus Schnitten störende Inhaltsstoffe herausgelöst werden sollen, da wird man mit Kalilauge, Ammoniak, verdünnten Säuren, Alkohol oder Aether fast stets zum Ziele gelangen. Stärke ist löslich in verdünnten Mineralsäuren (Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure); protoplasmatische Stoffe werden von verdünnter Kalilauge und Ammoniak gelöst. Milchsäfte lösen sich gewöhnlich durch Behandlung mit Kali und nachträgliche mit Alkohol; Oele sind löslich in Alkohol, Aether und Alkalien, ebenso die Harze einheimischer Pflanzen. — Auf diese Thatsachen gründen sich die von HANSTEIN, PFEFFER, RUSSOW u. A. eingeführten Aufhellungsmethoden.

Nach HANSTEIN legt man die Schnitte (auch Vegetationskegel, Meristeme) kurze Zeit in verdünnte Kalilauge, wäscht dann gut in Wasser aus, setzt concentrirte Essigsäure (bisweilen auch verdünnte Salzsäure) zu. Entweder wird in dieser letzten Flüssigkeit sogleich beobachtet oder nochmals in Wasser ausgewaschen und mit etwas Ammoniak neutralisirt.

Sind neben plasmatischen Substanzen auch Harze und Fette zu entfernen, so behandelt PFEFFER die Schnitte zuerst mit mässig concentrirter Kalilauge, wäscht oberflächlich aus und setzt reichlich absoluten Alkohol zu. Dann wird in salzsäurehaltiges Wasser übertragen und in reinem Wasser beobachtet.

RUSSOW wendet, um etwaiges Aufquellen der Zellwände zu vermeiden, eine Lösung von Kaliumhydroxyd in 96procentigem Alkohol (Kali-Alkohol) an. Man löst so viel Alkali in Alkohol, bis ein ge-

ringer Niederschlag entsteht, schüttelt mehrmals um, lässt einen Tag lang stehen und verdünnt vor dem Gebrauch mit der doppelten Menge Wasser.

Da die zu den vorstehend beschriebenen Methoden und anderwärts vielgebrauchten Lösungen von Kaliumhydroxyd in gewöhnlichen Gläsern durch Aufnahme von Kohlensäure aus der Luft leicht verderben, so muss man sie entweder frisch darstellen, oder man bewahrt sie zweckmässig in der folgenden, zuerst vom Verfasser angegebenen Vorrichtung (Figur 137). Die weithalsige Flasche *a* ist mit einem gut schliessenden Kautschukstopfen *b* versehen, welcher zwei Durchbohrungen besitzt. Durch die eine geht das heberartig gebogene Glasrohr *f* bis fast auf den Boden der Flasche *a*; seine obere, fein ausgezogene Oeffnung *g* kann mit einem Stückchen Kautschukschlauch, in das ein Stückchen Glasstab passt, luftdicht verschlossen werden. Die andere Durchbohrung von *b* trägt die gerade Chlorcaliumröhre *c*, die oben mit dem Kautschukstopfen *d* und dem beiderseits offenen Glasröhrchen *e* versehen ist. In *c* befindet sich unten ein kleiner Wattebausch, und darüber ist das Chlorcalciumrohr fast ganz mit einer Kohlensäure-absorbirenden Substanz angefüllt. Eine solche erhält man, wenn man gleiche Theile krystallisirtes Glaubersalz und Aetzkalk in einem Porcellanmörser stösst, das Gemisch vollständig ausquellen lässt und es in einer Blechschale über freier Flamme trocknet. Man füllt *c* mit kleinen Stückchen dieses Gemisches an. Verschliesst man nun *g* auf die vorhin beschriebene Weise, füllt *a* zu Dreiviertel mit frisch, und zwar in soeben ausgekochtem Wasser bereiteter Kalilauge an und setzt *b* fest auf, so hat die Luft zwar nach *a* ungehinderten Eintritt, vorher wird ihr jedoch die beigemengte Kohlensäure entzogen. Will man aus *g* einen Tropfen Kalilauge auf einen Objectträger bringen, so zieht man das verschliessende Kautschukstückchen von *g*, schiebt es über *e*, welches dadurch also geschlossen wird, und legt die Hand über den Luft enthaltenden Theil von *a*. Diese wird durch die Handwärme ausgedehnt, treibt die Flüssigkeit in *f* empor, welche schliesslich auf den unter *g* gehaltenen Objectträger tropfenweise ausfliesst. —



137.

In neuerer Zeit wird zum Aufhellen von Pflanzengeweben häufig auch das Kaliumhypochlorit (Ka Cl O) mit Recht verwandt [1]. Man gebraucht gewöhnlich die unreine, im Handel als Eau de Javelle zu beziehende Lösung des Kaliumhypochlorit, welche man sich auch dadurch selbst herstellen kann, dass man 20 Theile officinellen Chlorkalk mit 100 Theilen Wasser ansetzt und nach einiger Zeit eine Lösung von 15 Theilen Kaliumcarbonat in 100 Theilen Wasser zugiebt. Nach einigen Tagen filtrirt man die zu verwendende Flüssigkeit ab, die man übrigens im Dunkeln festverschlossen aufzubewahren hat. Man benutzt das Javelle'sche Wasser besonders, um Schnitte von plasmareichem Alkoholmaterial aufzuhellen (auch für Vegetationskegel und andere Meristeme). Dünnere Schnitte sind nach etwa 5, dickere nach 15 Minuten aufgehellt. Das Aufhellen geschehe wo möglich unter Deckglas; wird es an freier Luft vorgenommen, so ist eine Nachbehandlung mit verdünnter Essigsäure angezeigt, um das bei dem Vorgange in Körnchenform ausgeschiedene Calciumcarbonat zu entfernen. — An Stelle des Kaliumhypochlorit lässt sich auch das ähnlich wirkende Natriumhypochlorit (Eau de Labarraque) verwenden.

---

## VIII. Tinction mikroskopischer Präparate.

Wir haben im Verlauf des vorigen Capitels gesehen, dass es häufig nöthig wird, durch Aufhellungsmittel die Durchsichtigkeit mikroskopischer Schnitte zu erhöhen. Umgekehrt kann aber auch der Fall eintreten, dass das Studium gewisser Theile und Structuren wegen ihrer Durchsichtigkeit unter dem Mikroskop sehr schwierig wird, dass sie wegen ihrer Zartheit ohne Weiteres überhaupt nur sehr schwer zu sehen sind. Wenn ein zarter, farbloser Gegenstand in einer farblosen Flüssigkeit von demselben Brechungsindex liegt, so wird er unter dem Mikroskope kaum sichtbar sein; er ist um so deutlicher zu sehen, je mehr er sich in seinem Lichtbrechungsvermögen von der umgebenden Flüssigkeit unterscheidet — Verhältnisse, über die wir bei Beschreibung der Beobachtungsflüssigkeiten noch näher sprechen werden. Würden wir z. B. ein nach der auf p. 131 beschriebenen Methode hergestelltes Diatomeenpräparat, deren Schalen einen Brechungsindex von 1·43 haben, in nahezu concentrirtes Glycerin legen, welches den-

[1]) Zuerst empfohlen von Noll (Botan. Centralbl. Bd. XXI, 1885, No. 12, p. 377).

selben Brechungsindex hat, so würden sie uns damit unter dem Mikroskope unsichtbar werden.

Lässt sich nun einestheils die Sichtbarkeit eines Gegenstandes unter dem Mikroskope erhöhen, indem man ihn in einen Stoff von möglichst abweichendem Brechungsindex bringt, so kann das Gleiche erzielt werden, wenn man den Schnitt so vorbereitet, dass er sich in seinen Absorptionsverhältnissen für das durchfallende Licht bedeutend von der umgebenden Flüssigkeit unterscheidet. Die umgebenden Flüssigkeiten sind farblos oder nahezu farblos; färben wir nun den zu beobachtenden Schnitt ganz oder theilweise, z. B. intensiv roth, blau, violett, so werden wir uns dadurch die Beobachtung in sehr vielen Fällen wesentlich erleichtern. Kommt es auf das Hervortretenlassen gewisser Theile oder Bildungen innerhalb eines Schnittes an, so wird man diese natürlich viel bequemer und deutlicher sehen können, wenn es gelingt, dieselben mit einem Farbstoffe zu imprägniren, während die übrigen Theile des Schnittes ungefärbt bleiben. Man hat daher schon seit langer Zeit zahlreiche Färbungs- oder Tinctionsmethoden ersonnen; man tingirt mikroskopische Präparationen, um sich ihre Beobachtung zu erleichtern. Zumal die Zoologen und Mediciner sind uns hier weit voran, jedoch auch in der Botanik sind solche Tinctionsmethoden vielfach in Gebrauch. Auf manchen Gebieten, z. B. beim Studium von Zellkernen und von Bacterien sind sie geradezu unentbehrlich; man ist über den Bau, das Vorkommen dieser Gebilde erst seit jener Zeit klar geworden, als man gelernt hatte, sie in angemessener Weise zu färben.

In der Botanik steht jedoch diesen rein histologischen Tinctionsmethoden eine grosse Zahl anderer gegenüber, durch Anwendung welcher man sich unter dem Mikroskope Rechenschaft geben will über die chemische Beschaffenheit die den Pflanzenkörper zusammensetzenden Stoffe. In diesem Gebiete ist die Botanik dem entsprechenden der Zoologen weit überlegen. Es geschieht gleichfalls häufig dadurch, dass man gewisse Farbenreactionen auf die zu studirenden Stoffe hervorbringt, ähnlich so, wie der Chemiker im Laboratorium nach der Farbe künstlich erzeugter Niederschläge auf die qualitative chemische Zusammensetzung eines Stoffgemisches mit Recht schliesst. Diese sogenannten mikrochemischen Tinctionsmethoden werden uns hier nicht beschäftigen[1]; wir haben unser Augenmerk hier vielmehr ledig-

[1]) Vergl. über dieselben die ausführliche Bearbeitung in des Verfassers: Hilfsbuch zur Ausführung mikroskopischer Arbeiten im Botanischen Laboratorium (Braunschweig 1883, p. 219—387).

lich auf jene richten, welche uns das Studium des histologischen Baues erleichtern sollen, ohne Rücksichtsnahme auf die stoffliche Zusammensetzung der Präparate. Das natürlich auch viele dieser histologischen Färbungen auf einer chemischen Veränderung der gefärbten Theile beruhen, ist selbstverständlich und braucht nicht besonders hervorgehoben zu werden. Es geht aber daraus hervor, dass sich in vielen Fällen jene chemischen Farbenreactionen auch zur Klarlegung des histologischen Baues verwenden lassen.

**A. Tinctionsmittel.** Die Anzahl der zu mikroskopischen Färbungen vorgeschlagenen und angewandten Stoffe ist eine sehr grosse. Es ist nicht unsere Aufgabe, dieselben hier irgendwie vollständig aufzuzählen. Wir wollen hier vielmehr nur eine sehr beschränkte Auswahl vorführen, und zwar solche, welche sich einer allgemeineren Anwendung erfreuen. Die nachfolgenden Angaben zur Herstellung jener Farbstofflösungen beruhen, abweichend von den oft sehr unbestimmten Angaben in manchen anderen Werken, durchgängig auf positiven Zahlen; Quantum-Satis-Angaben wurden ganz vermieden. Verfasser glaubt durch Mittheilung dieser eigens für den Zweck durch zahlreiche Versuche ermittelten positiven Werthe dem Anfänger die Selbstanfertigung brauchbarer Lösungen wesentlich zu erleichtern. — Der Uebersichtlichkeit wegen theilen wir die Tinctionsmittel in einige Gruppen.

### I. Anilin-Tinctionsmittel.

Alle Anilin-, Azo- oder Theerfarbstoffe sind entweder in Wasser oder in Alkohol löslich. Bei einigen ist diese Löslichkeit sehr geringe (z. B. Aethylorange, welches in Alkohol unlöslich ist, wird von Wasser in nur 2 Promille gelöst), bei anderen steigt sie bedeutend (so löst z. B. Alkohol 10 Procent Fuchsin und sogar 40 Procent Aurin). Die zu mikroskopischen Tinctionen verwandten Lösungen sind wässerige oder alkoholische, welche meist neutral, bisweilen aber auch sauer oder alkalisch zur Anwendung gelangen.

1. *Fuchsin-Methylviolett.* Dieses bereits 1868 von Hanstein in die mikroskopische Technik eingeführte Anilingemisch besteht aus gleichen Gewichtstheilen Fuchsin (Anilinroth, Chlorwasserstoff-Verbindung des Rosanilins) und Methylviolett, welche man zur Sättigung in absolutem Alkohol löst (100 Theile Alkohol lösen 11·5 Theile des Gemisches). Man benutzt es entweder concentrirt oder verdünnt es zum Gebrauch

je nach Wunsch mit Alkohol. Die alkoholische Lösung ist tief violettroth, mit einem Stich ins Blaue und bereits in dünnen Schichten undurchsichtig, an den Glaswänden grünen Metallglanz erzeugend.

2. *Safranin.* Es stellt ein schwarzbraunes Pulver dar, welches in zahlreichen wasserlöslichen und spirituslöslichen Marken in den Handel kommt. Verfasser verwendet „Safranin O Wasserlöslich" von Dr. Münder, Chemisch-mikroskopisches Institut Göttingen. Man löst in der Kälte:

| | |
|---|---|
| Alkohol, absolut, . . . . . . | 50 cc |
| Wasser, destillirt, . . . . . . | 50 „ |
| Safranin . . . . . . . . . . | 0·2 g |

Man erhält dadurch eine concentrirte Lösung des Farbstoffes, welche hochroth, mit einem Stich ins Blaue ist, während sie in dünnen Schichten kirschroth aussieht. Nach einigen Tagen hat sich in der Lösung ein geringer dunkler Niederschlag gebildet, welchen man durch Filtriren beseitigt.

3. *Gentianaviolett*, ein schmutzig-grünliches Pulver, löst sich in Alkohol ziemlich reichlich, während Wasser dasselbe weniger aufnimmt. Nach Ehrlich stellt man eine für Bacterienuntersuchungen passende, aber auch sonst in der Botanik mit Vortheil zu verwendende Lösung des Gentianaviolett auf folgende Weise her. Man mischt in der Kälte:

| | |
|---|---|
| Alkohol, absolut, . . . . . . | 15 cc |
| Amidobenzol . . . . . . . | 3 „ |
| Wasser, destillirt, . . . . . . | 80 „ |
| Gentianaviolett . . . . . . | 1 g |

Man löst am besten zuerst das Amidobenzol ($C_6H_5 . NH_2$, auch Anilin oder Anilinöl [1] genannt) in Alkohol, fügt dieses Gemisch zu dem in einer Glasflasche befindlichen Gentianaviolett und setzt zum Schluss das Wasser zu. Es ist nicht nöthig zu filtriren; es entsteht eine tief veilchenblaue, ziemlich concentrirte Lösung des Farbstoffes (die obige Mischung von Alkohol, Amidobenzol und Wasser ist im Stande 1·653 Theile reinen Gentianaviolettes zu lösen), welche entweder in dieser Stärke oder mit Wasser in verschiedener Weise verdünnt zur Anwendung gelangt.

Eine sehr verdünnte, für Zellkernstudien empfehlenswerthe Lösung des Gentianaviolettes entsteht, wenn man 0·3 g des Farbstoffes in 100 cc

[1]) Das käufliche „Anilinöl" pflegt ein Gemisch von Amidobenzol, Toluidin und Paratoluidin zu sein.

absoluten Alkohols löst und von dieser Lösung 1 cc zu 1000 cc Wasser giebt. (Moll).

4. *Methylgrün* ist ein grünspanfarbiges Pulver, leicht in Wasser, schwer in Alkohol löslich. Man verwendet dasselbe als Tinctionsmittel in 2- bis 3procentiger wässeriger Lösung oder als sogenannte Methylgrün-Essigsäure (Strasburger) von folgender Zusammensetzung:

| | |
|---|---|
| Wasser, destillirt, . . . . . | 100 cc |
| Essigsäure, concentrirt, . . . | 1 „ |
| Methylgrün . . . . . . . | 2 g |

Die wässerige wie die essigsaure Lösung ist indigoblau mit einem Stich ins Grüne.

5. *Bismarckbraun* oder Phenylenbraun stellt ein dunkelbraunes Pulver dar, welches in Wasser im Verhältniss von 3 : 100 löslich ist. Man übergiesst in einem Reagenzcylinder 0·3 g Bismarckbraun mit 10 cc destillirten Wassers und erhitzt bis zum Sieden. Nach dem Erkalten wird filtrirt und der Lösung 1 cc absoluter Alkohol zugesetzt (Weigert). Die Lösung ist nahezu undurchsichtig, dunkel orangebraun. Soll Bismarckbraun zum Studium lebender niederer Organismen dienen (Brandt), so giebt man 1 cc der obigen Mischung (ohne Alkoholzusatz) zu 120 cc destillirten Wassers, wodurch eine orangegelbe Lösung entsteht.

6. *Corallin*. Das Corallin, auch Rosolsäure genannt, bildet kleine braunrothe Kryställchen mit grünlichem Metallschimmer. Es wird in alkalisch reagirender Lösung verwandt, nämlich:

| | |
|---|---|
| Wasser, destillirt, . . . . . | 40 cc |
| Natriumcarbonat . . . . . . | 10 g |
| Corallin . . . . . . . . . . | 0·4 „ |

Man löst zunächst das Natriumcarbonat im Wasser und fügt sodann das Corallin zu, welches langsam in Lösung übergeht. Nach etwa 6 Stunden filtrirt man durch Filtrirpapier. Die Lösung stellt eine dunkele, trübrothe Flüssigkeit dar.

7. *Nigrosin*, im Verein mit Pikrinsäure zur Tinction verwandt, wurde bereits oben p. 103 bei Gelegenheit der Härtungsflüssigkeiten beschrieben.

8. *Anilinsulfat*. Es stellt in reinem Zustande ein weisses, krümliches Pulver dar, welches in Wasser leicht, in Alkohol schwer, in Aether nicht löslich ist.

| | | |
|---|---|---|
| Wasser, destillirt, | . . . . . . | 10 cc |
| Schwefelsäure | . . . . . . . . | 1 Tropfen |
| Anilinsulfat | . . . . . . . . | 0·1 g |

werden in der Kälte gelöst und geben eine farblose, jahrelang haltbare Flüssigkeit, welche von Wiesner in die botanische Mikroskopie eingeführt wurde. (An Stelle des Anilinsulfats wendet v. Höhnel das ähnliche salzsaure Anilin an, welches er in stark salzsaurer, wässeriger Lösung empfiehlt.)

## II. Carmin-Tinctionsmittel.

Der Carmin, ein Pulver von prächtig rother Farbe, wird von einer Schildlaus, Coccus cacti, producirt, welche man im Handel Cochenille nennt, und welche in Mexico, Brasilien, auf Teneriffa und anderwärts auf Opuntia coccinellifera gezogen wird. Die besten Carmine führen den Namen „Carmin Nacarat“. Das wirksame, färbende Princip in demselben ist die Carminsäure, $C_{17} H_{18} O_{10}$.

Die Carminsäure ist in Wasser sehr schwer löslich, leicht löslich dagegen in Kalium-, Natriumhydroxyd und Ammoniak unter Bildung von Kalium-, Natrium-, resp. Ammoniumcarminat. Auch bei Gegenwart anderer Stoffe, Alkalisalzen, Borsäure, Essigsäure, Oxalsäure, Pikrinsäure etc. geht die Carminsäure reichlich in Lösung über. Je nach diesen verschiedenen Zusätzen richtet sich die Farbe der erzeugten Carmin-Flüssigkeit, welche vom hellen Blutroth bis zum tiefen Purpurroth wechselt. Einige der gebräuchlichsten Carminlösungen aus der grossen Zahl der in Vorschlag gebrachten sind die folgenden.

1. *Alkoholischer Carmin* (Beale). Es ist eine mit Glycerin versetzte, alkoholische Lösung von Ammoniumcarminat von der Zusammensetzung:

| | | |
|---|---|---|
| Carmin | . . . . . . . . . | 0·6 g |
| Ammoniak | . . . . . . . . | 2 cc |
| Glycerin | . . . . . . . . . | 60 „ |
| Alkohol, absolut, | . . . . . . | 15 „ |
| Wasser, destillirt, | . . . . . | 60 „ |

Man bringt in einen Reagenzcylinder den Carmin, übergiesst mit der angegebenen Menge Ammoniak (spec. Gew. 0·91) und erhitzt eben zum Kochen. Das entstandene, erkaltete Ammoniumcarminat wird in die kalt bereitete Mischung von Glycerin, Alkohol und Wasser übertragen und das Ganze filtrirt. Man setzt, um etwaige Trübungen zu vermeiden, noch einige Tropfen Ammoniak zu und bewahrt die ziemlich

haltbare Flüssigkeit in mit einem Korkstöpsel fest verschlossener Flasche auf. Von Zeit zu Zeit ist zu filtriren und etwas Ammoniak zuzusetzen, wodurch die Flüssigkeit einen dunkleren Farbenton annimmt.

2. *Borax-Carmin* (GRENACHER). Man bereitet denselben, indem man kochend löst

| | |
|---|---|
| Carmin . . . . . . . . . . | 2 g |
| Borax (Natriumtetraborat) . . | 4 „ |
| Wasser . . . . . . . . . . | 100 cc |

Nach dem Erkalten setzt man 100 cc absoluten Alkohol zu, filtrirt und lässt mehrere Wochen lang in einer verschlossenen Flasche stehen. Es bildet sich ein reichlicher Bodensatz, von welchem man die klare Flüssigkeit abgiesst und nochmals filtrirt. — Eine andere Form des Borax-Carmins entsteht, wenn man das obige, erkaltete Gemisch (ohne Alkohol) mit 100 cc Wasser verdünnt und nun tropfenweise solange (wenig) Essigsäure zusetzt, bis die Flüssigkeit eine hochrothe Farbe angenommen hat und sehr durchsichtig geworden ist.

3. *Oxalsäure-Carmin* (THIERSCH). Man stellt eine Ammoniumcarminat- und eine alkoholische Oxalsäure-Lösung dar nach den Formeln

| | | | |
|---|---|---|---|
| a | Carmin . . . . . . . . . . . . . . . | 1 | g |
| | Ammoniak (spec. Gew. 0·91) . . . . . . | 1 | cc |
| | Wasser, destillirt, . . . . . . . . . . . | 1 | „ |
| b | Oxalsäure . . . . . . . . . . . . . . | 0·9 | g |
| | Alkohol, absolut, . . . . . . . . . . . | 30 | cc |
| | Wasser, destillirt, . . . . . . . . . . . | 20 | „ |

Die getrennt dargestellten Lösungen werden vermischt; man schüttelt gut durch, lässt einige Zeit stehen und filtrirt. Die hellrothe, durchsichtige Flüssigkeit hält sich in verschlossenen Flaschen jahrelang ohne den geringsten Niederschlag zu geben.

4. *Borsäure-Carmin* (ARCANGELI). Eine gleichfalls sehr durchsichtige, mehr ins Violette spielende Carminsorte ist der von ARCANGELI empfohlene Borsäure-Carmin:

| | | |
|---|---|---|
| Carmin . . . . . . . . . | 0·25 | g |
| Borsäure . . . . . . . . . | 2 | „ |
| Kalialaun . . . . . . . . . | 10 | „ |
| Wasser, destillirt, . . . . | 100 | cc |

Man kocht etwa 10 Minuten lang und filtrirt die noch warme Flüssigkeit, welche haltbar ist; ein mit der Zeit entstehender, geringer Niederschlag kann durch Filtriren entfernt werden.

5. *Ammoniumcarminat, trocken* (HOYER) bildet eine fast trockene Pasta, welche zum Gebrauch gelöst wird.

| | |
|---|---|
| Carmin . . . . . . . . . . . . . . . . . | 1 g |
| Ammoniak (spec. Gew. 0·91) . . . . . . . . | 2 cc |
| Wasser, destillirt, . . . . . . . . . . . . | 8 „ |

werden in einem Glasgefässe auf dem Sandbade bis zur Verflüchtigung des überschüssigen Ammoniaks erhitzt, was sich dadurch kundgiebt, dass an Stelle der grossen Blasen des sich verflüchtigenden Ammoniaks kleine Bläschen der dunkelrothen Flüssigkeit entsteigen, und letztere eine etwas hellere Färbung annimmt. Man lässt erkalten und setzt etwa 50 cc absoluten Alkohol zu, wodurch sich ein scharlachrother Niederschlag bildet. Diesen trennt man durch Filtriren, wäscht ihn auf dem Filter aus und trocknet ihn. Man kann ihn auch mit wenig Alkohol, dem etwas Glycerin und Chloralhydrat zugesetzt ist, zu einem Teig verkneten, welcher wie der Niederschlag mehrere Monate aufbewahrt werden kann. Beide sind leicht in Wasser löslich und werden in dieser Form zu Tinctionen benutzt.

6. *Pikrocarmin* (WEIGERT). Der Pikrocarmin, auch Ammoniumpikrocarminat genannt, stellt eine tief blutrothe, bereits in dünnen Schichten undurchsichtige Flüssigkeit dar, welche durch Vermischen von Carminlösung mit Pikrinsäure entsteht;

| | | |
|---|---|---|
| Carmin . . . . . . . . . . . . . . . . . | 2 | g |
| Ammoniak (spec. Gew. 0·91) . . . . . . . . | 4 | cc |
| Pikrinsäure . . . . . . . . . . . . . . | 1·25 | g |
| Wasser . . . . . . . . . . . . . . . | 200 | cc |

Man giebt zunächst in einen Reagenzcylinder den Carmin, übergiesst mit dem Ammoniak, verkorkt und lässt 24 Stunden lang stehen. Nun löst man die Pikrinsäure in Wasser, giesst das Ammoniumcarminat in diese Lösung, lässt wiederum einen Tag lang stehen und setzt tropfenweise ganz wenig Eisessig zu, bis sich beim Umschütteln eben ein ganz schwacher Niederschlag zeigt. Nach 24stündigem Stehenlassen hat sich ein abzufiltrirender Niederschlag gebildet, dann setzt man in grösseren Zwischenräumen tropfenweise Ammoniak zu, bis die Lösung klar wird. Färbt die Lösung zu gelb, so lässt sich dieses durch eine Spur Essigsäure ausgleichen, färbt sie zu roth, so corrigirt man das durch Zusatz von ganz wenig Ammoniak.

### III. Hämatoxylin-Tinctionsmittel.

Das Hämatoxylin, $C_{16} H_{14} O_6 + 3$ aq., ist das Chromogen im Kernholz des bekannten Campecheholzes, Haematoxylon campechianum, aus

Mexico (logwood der Engländer). Es ist gegenwärtig im reinen Zustande in Form eines hellgelblichen Krystallpulvers käuflich zu beziehen, während man früher gewöhnlich den Auszug aus dem geraspelten Campeche- oder Blauholz zu mikroskopischen Tinctionen verwandte. Das Hämatoxylin löst sich in kaltem Wasser und Aether nur wenig, reichlicher in Alkohol und in Lösungen alkalisch reagirender Salze. Lösungen von Borax und Alaun nehmen es in ziemlicher Menge auf. Fast alle zu Tinctionszwecken verwandten Hämatoxylinlösungen enthalten Alaun und Alkohol.

1. *Hämatoxylin* von Böhmer. Man stelle eine alkoholische Hämatoxylinlösung (a) und eine wässerige Kalialaunlösung (b) dar:

| | | | |
|---|---|---|---|
| a | Hämatoxylin, krystallisirt, . . . . . . | 0·35 | g |
| | Alkohol, absolut, . . . . . . . . . . | 10 | cc |
| b | Kalialaun . . . . . . . . . . . . . | 0·1 | g |
| | Wasser, destillirt, . . . . . . . . . . | 30 | cc |

Beide Lösungen werden getrennt gehalten, vor dem Gebrauch giebt man 1 cc der Hämatoxylinlösung auf 30 cc der Alaunlösung, oder, was annähernd dasselbe ist, 3 Tropfen von a auf ein Uhrgläschen (= 6 cc) von b. Dann lässt man einige Tage am Lichte stehen, filtrirt und verwendet zur Tinction. Die Lösung a bräunt sich mit der Zeit und giebt einen geringen Bodensatz, sie behält trotzdem ihre Wirksamkeit.

2. *Hämatoxylin* von Delafield, wurde früher fälschlich Grenacher zugeschrieben, hat folgende Zusammensetzung:

| | | | |
|---|---|---|---|
| a | Hämatoxylin, krystallisirt, . . . . . . | 4 | g |
| | Alkohol, absolut, . . . . . . . . . . | 25 | cc |
| b | Ammoniakalaun . . . . . . . . . . . | 36 | g |
| | Wasser, destillirt, . . . . . . . . . . | 400 | cc |
| c | Glycerin . . . . . . . . . . . . . | 100 | „ |
| | Methylalkohol . . . . . . . . . . . | 100 | „ |

Die Lösungen a, b und c stellt man getrennt ohne Erwärmen dar und vermischt zunächst a mit b. Dann lässt man das Gemisch 3 bis 4 Tage offen am Lichte stehen, filtrirt und fügt c zu, worauf die Flüssigkeit längere Zeit reifen muss. Sie dunkelt allmählich stark; nach einigen Monaten ist sie in dickeren Schichten undurchsichtig geworden und hat in dünnen eine dunkele Bordeauxfarbe. Jetzt ist sie zum Gebrauch fertig und wird für Tinctionen je nach Wunsch mit destillirtem Wasser verdünnt. Mehrere Forscher (Mitchell Prudden, Bolles Lee) rühmen der Lösung nach, dass sie in wohlverschlossenen Flaschen

jahrelang unveränderlich sei; das ist jedoch nicht der Fall, sie setzt mit der Zeit einen krustenförmigen, dunkelen Bodensatz [1] ab, der übrigens unbeschadet ihrer Wirksamkeit zeitweilig durch Filtriren entfernt werden kann.

3. *Hämatoxylin* von Ehrlich. Dasselbe ist von ähnlicher Zusammensetzung wie das vorige, enthält aber Essigsäure und zeichnet sich vor jenem dadurch aus, dass es, in festverschlossener Flasche aufbewahrt, keinen Bodensatz giebt. Seine Farbe ist etwas heller, mehr blutroth. Man mischt in der Kälte

| | | |
|---|---|---|
| Hämatoxylin, krystallisirt, . . . . . . . | 2 | g |
| Eisessig . . . . . . . . . . . . . . . | 10 | cc |
| Glycerin . . . . . . . . . . . . . . . | 100 | „ |
| Alkohol, absolut, . . . . . . . . . . . | 100 | „ |
| Wasser, destillirt, . . . . . . . . . . . | 100 | „ |

und fügt Kalialaun im Ueberschuss hinzu. Nachdem das Gemisch unter mehrmaligem Umschütteln längere Zeit dem Lichte ausgesetzt gewesen ist und die oben genannte Farbe angenommen hat, wird es filtrirt und ist zum Gebrauch fertig.

4. *Hämatoxylin* von Renaut ist weniger haltbar, tingirt aber schnell und sollte häufiger frisch bereitet werden.

| | | | |
|---|---|---|---|
| a | Hämatoxylin, krystallisirt, . . . . . | 2 | g |
| | Alkohol, absolut, . . . . . . . . . | 100 | cc |
| b | Kalialaun . . . . . . . . . . . . | 2 | g |
| | Glycerin . . . . . . . . . . . . | 100 | cc |
| | Wasser, destillirt, . . . . . . . . . | 100 | „ |

Die Lösungen a und b werden getrennt dargestellt; a wird langsam in b gegossen. Es darf kein Niederschlag entstehen. Sollte die Lösung sich trüben, ehe das ganze Quantum a zugegossen wurde, so hört man damit auf oder fügt noch etwas Lösung b hinzu, worauf die Trübung wieder verschwinden wird. Man filtrirt, lässt die Flüssigkeit mehrere Wochen offen stehen bis sie nicht mehr nach Alkohol riecht, filtrirt nochmals und bewahrt in verschlossener Flasche auf.

5. *Eosin-Hämatoxylin* nach Strasburger. Die von Stirling, Busch und Renaut angegebene Combination von Eosin ($C_{20} H_8 Br_4 O_5$)

[1]) Er entsteht dadurch, dass sich der Alaun in freie Schwefelsäure einestheils und eine basische Lack-bildende Aluminiumverbindung anderntheils zersetzt, welch letztere den Bodensatz bedingt.

und Hämatoxylin eignet sich, wie zuerst STRASBURGER zeigte, vortrefflich zu Doppelfärbungen (p. 152, 156) pflanzlicher Präparate. Eosin, ein rostrother, in Wasser wie in Alkohol mit morgenrother Farbe löslicher, stark gelbgrün fluorescirender Anilinfarbstoff wird in folgender Lösung verwandt:

| | | |
|---|---|---|
| Eosin . . . . . . . . . . . . . . . | 0·5 | g |
| Alkohol, absolut, . . . . . . . . . . . | 50 | cc |
| Glycerin . . . . . . . . . . . . . . . | 50 | „ |

Hierzu setzt man 30 cc des nach der Vorschrift auf p. 147 dargestellten DELAFIELD'schen Hämatoxylins und erhält nun eine dunkel saftgrüne Mischung mit röthlichem Schimmer, die nach einiger Zeit durch Glaswolle zu filtriren ist und deren Farbe später in Violettroth umschlägt. Man wird sie zum Gebrauch mehr oder weniger mit Wasser verdünnen, wobei ein flockiger, abzufiltrirender Niederschlag ausfällt. In 25facher Verdünnung, in welcher sie noch ein starkes Tinctionsvermögen besitzt, sieht sie bei durchfallendem Lichte violettroth aus und fluorescirt dunkelmoosgrün. Ein Zusatz von soviel Hämatoxylinlösung „bis dass die grüne Fluorescenz des Eosins fast verschwunden ist" (STRASBURGER) ist dem Verf. weniger vortheilhaft erschienen.

### IV. Sonstige Tinctionsmittel.

Während wir unter den Ueberschriften I bis III solche Tinctionsmittel beschrieben haben, die, in der richtigen Weise angewandt, dauerhafte Färbungen ermöglichen, wollen wir zum Schluss noch einige solche nennen, die nur kurze Zeit andauernde Tinctionen gestatten, wenn diese auch zum Studium vieler Verhältnisse äusserst günstig sind. Es sind Stoffe, deren Wirkung auf vorwiegend chemischen Farbenreactionen (p. 140) beruht.

1. *Jodjodkaliumlösung* wird dargestellt durch Auflösen von metallischem Jod in wässeriger Jodkaliumlösung:

| | | |
|---|---|---|
| Jod . . . . . . . . . . . . . . . . | 1 | g |
| Jodkalium . . . . . . . . . . . . . . | 3 | „ |
| Wasser, destillirt, . . . . . . . . . . . | 60 | cc |

Es entsteht eine braunrothe Flüssigkeit, welche zum Gebrauch mit Wasser auf 2 bis 4 Theile verdünnt wird. Diese wie die folgende Lösung sind im Dunkeln aufzubewahren, da sie sonst durch Bildung von Jodwasserstoffsäure bald verderben.

2. *Chlorzinkjod.* Wir empfehlen die folgende Vorschrift zur Herstellung dieser wichtigen Lösung:

| | | |
|---|---|---|
| Chlorzink, trocken, . . . . . . . . . . | 50 | g |
| Jodkalium . . . . . . . . . . . . . . . | 15 | „ |
| Jod . . . . . . . . . . . . . . . . . | 1·5 | „ |
| Wasser . . . . . . . . . . . . . . . | 20 | cc |

Die Stoffe werden zusammengethan, in einem Glaskolben auf dem Wasserbade kurze Zeit gelinde erhitzt und nach dem Erkalten in eine mit Glasstöpsel zu verschliessende Flasche gefüllt. Die Farbe ist ähnlich wie die der vorigen Flüssigkeit, jedoch heller.

3. *Phloroglucinlösung* (Wiesner). Das Phloroglucin (Trioxyhydrobenzol $C_6H_3 . 3[HO]$) stellt im reinen Zustande hellgelbe Kryställchen dar, während unreineres pulverförmig und von mehr bräunlicher Farbe ist. Es wird in alkoholischer Lösung, 10- bis 1procentig verwandt, im Verein mit concentrirter oder fast concentrirter Salzsäure. Die Lösung des Phloroglucins bräunt sich mit der Zeit an der Luft.

**B. Allgemeines über Tinctionen.** Das Verfahren beim Färben pflanzlicher Objecte ist im allgemeinen fast stets das Gleiche; es wird wohl durchgängig erst dann vorgenommen, wenn das betreffende Organ bereits in die mikroskopischen Schnitte zerlegt ist. Durchfärbungen ganzer Stücke vor dem Schneiden (Färbungen „in toto" wie Zoologen und Mediciner sagen) kommen bei botanischen Objecten wohl kaum vor. Die Färbung wird entweder vorgenommen auf dem Objectträger, in einem Uhrgläschen, einer Glas- oder Porcellanschale; sie besteht darin, dass man das zu färbende Object kürzere oder längere Zeit in das passende Tinctionsmittel eintaucht und es darauf in diesem Mittel selbst, häufiger jedoch in Wasser, Alkohol oder Glycerin studirt.

Es ist nicht gleichgiltig, aus welcher Flüssigkeit das Object in das Tinctionsmittel übertragen wird. Vor allem darf jene Flüssigkeit nicht Spuren gewisser Stoffe enthalten, welche die Tinction ganz oder theilweise verhindern würden. Ist das Lösungsmittel für den Farbstoff Wasser, so bringt man die zu färbenden Objecte vor dem Vorgange in dieses, auch solche, welche etwa in Alkohol gelegen hatten. Bei denjenigen Färbeflüssigkeiten, welche Alkohol enthalten, kann das Object aus absolutem oder verdünntem Alkohol in diese übertragen werden. Lag das Object in Glycerin, so verdrängt man letzteres vor der Tinction im einen Falle durch Wasser, im anderen durch verdünnten Alkohol. Bei vielen Tinctionen, vornehmlich bei allen Hämatoxylinfärbungen, ist darauf zu achten, dass die Flüssigkeit, aus welcher das Object in das Färbemittel übertragen wird, nicht die geringste Spur freie Säure ent-

halte. Käuflicher verdünnter Alkohol sowie Glycerin reagiren oft sauer. Viel weniger schadet eine schwach alkalische Reaction des Objectes; man kann diese natürlich leicht hervorbringen (und durch Lackmuspapier [1] nachweisen) durch Zusatz einiger Tropfen schwachen Ammoniakwassers.

Die Einwirkungsdauer der einzelnen Tinctionsmittel ist je nach ihrer Natur, bisweilen auch nach der Beschaffenheit des mikroskopischen Objectes sehr verschieden. Während Jodlösungen, Phloroglucin und die meisten Anilinfarbstoffe nur wenige Secunden bis einige Minuten einzuwirken brauchen, dauert die Tinction mit Hämatoxylin einige Minuten bis einige Stunden, die mit Carminen meist mehrere (z. B. Grenacher's Boraxcarmin p. 145) bis zu 24 Stunden (z. B. Beale's Carmin p. 144).

Verbleiben die Objecte längere Zeit als nöthig in dem Tinctionsmittel, so tritt eine Ueberfärbung ein, d. h. die Färbung wird dunkler als man gewünscht hatte. Daher ist es gewöhnlich rathsam, von Zeit zu Zeit einen Schnitt aus der Färbeflüssigkeit hervorzuheben, ihn abzuspülen, auf den Objectträger zu legen und sich unter dem Mikroskope Rechenschaft von dem Fortschreiten der Tinction zu geben. Ist eine Ueberfärbung eingetreten, so lässt sich dieselbe gewöhnlich durch nachträgliche Anwendung geeigneter Flüssigkeiten wieder ausgleichen. Bei anderen Objecten überfärbt man absichtlich, um später durch Abschwächung den gewünschten Ton hervorzubringen. Im einen wie im anderen Falle richten sich die zur Abschwächung verwendeten Flüssigkeiten nach der Natur des Tinctionsmittels.

Bei den Anilin-Tinctionsmitteln (p. 141—144) dienen als Farbe-entziehende Flüssigkeiten Wasser, Alkohol oder Glycerin. Bringt man einen überfärbten Schnitt in eine dieser Flüssigkeiten und giebt derselbe in kürzerer Zeit Farbstoff an letztere ab, so pflegt sie zur Abschwächung geeignet zu sein. Für einige Anilinfarbstoffe (Gentianaviolett, Methylviolett) wird auch ziemlich stark mit Salzsäure oder Salpetersäure angesäuertes Wasser empfohlen, für andere (Safranin) Wasser mit einer Spur Essigsäure.

Die Abschwächung der mit Carminlösungen überfärbten Präparate geschieht gewöhnlich mit 70- bis 80procentigem Alkohol, dem eine Spur Salzsäure (z. B. 4 bis 6 Tropfen auf 100 cc Alkohol) zugesetzt ist

[1]) Ein viel feineres Reagenz ist Phenol-Phthaleïn (alkoholische Lösung von 1 : 30 Alkohol), mit dem sich die geringsten Spuren Säure oder Alkali nachweisen lassen. Es wird farblos durch Säuren (mit Einschluss der Kohlensäure), violett durch Alkali.

(GRENACHER's Boraxcarmin), oder in einer Lösung von etwas Oxalsäure in Alkohol oder in Salzsäure-haltigem Glycerin (200 cc Glycerin mit 1 cc Salzsäure). Ist die Abschwächung beendet, so muss wiederholt mit säurefreiem Alkohol ausgewaschen werden, worauf der Schnitt in Wasser oder reines Glycerin übertragen wird.

Hämatoxylin-Tinctionen werden mit Wasser oder mit Wasser nebst einer Spur Salzsäure oder mit Alaunlösung abgeschwächt, oder die Ueberfärbung wird durch Nachbehandlung mit verdünnter Essigsäure ausgeglichen. Ist die Abschwächung durch eine Säure bewerkstelligt, so muss letztere nachträglich durch eine Spur Ammoniak neutralisirt werden. Der geringste Säurerest, welcher in Hämatoxylinpräparaten zurückbliebe, würde dieselben nach kurzer Zeit unabweislich dem Verderben anheimgeben. Will man daher solche Präparate dauernd und unverändert in Glycerin aufheben, so hat man sich vorher davon zu überzeugen, dass dies freie Säure nicht enthält.

Die Art und Weise, wie die Tinctionsmittel auf die Objecte einwirken, ist verschieden. Entweder färben sie den ganzen Schnitt gleichmässig in derselben Farbe, oder es werden nur einzelne Theile desselben gefärbt, während andere farblos bleiben. Im ersten Falle tritt eine diffuse Färbung ein, im zweiten findet eine differente Färbung statt.

Legt man z. B. einen Schnitt durch ein sehr junges Organ in Methylgrün oder Methylgrün-Essigsäure (p. 143), so wird sein Zellgerüst häufig überall eine hellgrüne Färbung annehmen. War es früher wegen seiner Zartheit nur schwer zu sehen, so wird es jetzt in dieser diffusen Färbung viel bequemer zu beobachten sein.

Ganz anders wird das Bild, wenn wir einen Schnitt, beispielsweise durch einen Umbelliferen-Stengel, in Safraninlösung (p. 142) legen. Während ganze Zelllagen desselben ungefärbt bleiben, werden sich andere unter dem Mikroskope leuchtend roth darstellen. Hier ist also die Aufnahme des Farbstoffes im Gegensatz zur diffusen Färbung lediglich an gewisse Zellgruppen gebunden.

Vielfach tritt übrigens auch der Fall ein, dass sich bei lange andauernder Einwirkung des Farbstoffes, also bei Ueberfärbung, der ganze Schnitt gleichmässig tingirt, und dass erst durch die abschwächenden Flüssigkeiten eine Differenzirung der Farbe eintritt, indem der Farbstoff gewissen Theilen entzogen wird, während andere trotz Einwirkung dieser Mittel denselben zurückbehalten.

Eine besondere Art der Tinctionen sind die sogenannten Doppelfärbungen, welche dadurch entstehen, dass man denselben Schnitt

nach einander in zwei Tinctionsmittel legt, oder dass man ein Gemisch von zwei Färbeflüssigkeiten gleichzeitig auf ihn einwirken lässt. Im vorigen haben wir bereits drei derartige combinirte Tinctionsmittel kennen gelernt, das Fuchsin-Methylviolett (p. 141), das Eosin-Hämatoxylin (p. 148) und den Pikrocarmin (p. 146). Legen wir den Schnitt eines jungen, vielleicht einjährigen Stammes einer Holzpflanze in die alkoholische Lösung des ersten Gemisches, spülen mit Alkohol ab und untersuchen in Wasser, so zeigt sich, dass die äusseren Rindenschichten und die äusseren Marklagen satt blau geworden sind, die Bastgefässe und der Weichbast ist röthlich, die Gefässbündel sind schön violett gefärbt, während die inneren Rindenschichten, das Cambium, das Holzparenchym und der centrale Marktheil ungefärbt geblieben sind. Wir haben auf diese Weise eine Doppelfärbung oder eigentlich eine Dreifachfärbung unseres Schnittes zu Wege gebracht. —

In einigen Fällen werden die Tinctionen nicht an den frei schwimmenden Objecten ausgeführt, sondern letztere werden vorher nach unten zu beschreibenden Methoden auf dem Objectträger festgeklebt, oder sehr kleine Gebilde (z. B. Bacterien) lässt man vor der Tinction auch wohl am gereinigten Objectträger oder Deckgläschen festtrocknen.

Färbungen von auf dem Objectträger festgeklebten Schnitten, z. B. für Tinctionen der Kerntheilungsfiguren, werden in der Weise vorgenommen, dass man die Objectträger mit den Schnitten aus Alkohol, in welchen sie bis zur Vornahme der Färbung gelegt wurden, hervorholt, kurze Zeit in Wasser abspült und nun so lange in die in einer Glasdose befindliche Färbeflüssigkeit versenkt, bis die Tinction vollzogen ist. Dann werden sie herausgenommen und je nach der Art des Tinctionsmittels mit Wasser oder Alkohol (etwa unter Zusatz einer Spur Essig- oder Salzsäure) abgespült. Darauf wischt man sie um die Schnitte herum trocken, taucht sie zur Verdrängung des Wassers in absoluten Alkohol, giebt alsdann auf die Schnitte einen Tropfen Nelkenöl und schliesst in Canadabalsam ein (s. u.).

Sollen Bacterien auf dem Objectträger gefärbt werden, so lässt man nach R. Koch einen Tropfen der sie enthaltenden Flüssigkeit auf demselben eintrocknen, erweicht dann in einer Lösung von Kaliumacetat (1 : 2 Wasser), legt den Objectträger in die Färbeflüssigkeit (Anilinfarbstoffe), spült mit Alkohol und Wasser ab, lässt wiederum trocknen und schliesst in dünnflüssigen, in Chloroform gelösten Balsam ein. In ganz ähnlicher Weise werden auch die bei den Bacteriologen beliebten, gefärbten „Deckglastrockenpräparate“ hergestellt, bei welchen die Bacterien an dem Deckgläschen haften und sich daher für die Unter-

suchung mit Oelimmersionen (p. 24) ganz besonders eignen. Auf dem Deckgläschen wird eine dünne Schicht der Bacterien-haltigen Flüssigkeit ausgebreitet, die man an der Luft völlig eintrocknen lässt. Dann fasst man dasselbe mit einer Pincette und zieht es mehrmals, die Bacterienseite nach oben, durch eine kleine Spiritusflamme, um das im Präparate enthaltene Eiweiss in einen unlöslichen Zustand überzuführen (Homogenisirung des Eiweisses; Koch). Hierauf lässt man das Gläschen mit der Schicht nach unten einige Zeit auf der in einem Uhrgläschen befindlichen Färbeflüssigkeit (s. u.) schwimmen, spült mit Wasser oder Alkohol oder beiden ab, lässt vor Staub geschützt trocknen und untersucht entweder trocken, in Wasser oder in Canadabalsam.

**C. Tinctionen.** Da es nicht die Aufgabe dieses Buches ist, die Untersuchungsmethoden der Pflanzenorgane für specielle Fälle zu beschreiben, so können wir auch über die Einwirkung der Tinctionsmittel auf die einzelnen Elemente des Pflanzenleibes hier nur im allgemeinen einige Andeutungen machen und verweisen für specielle Fälle auf diejenigen Werke, welche die Untersuchung dieser zum Gegenstande haben[1].

Bei höheren Pflanzen wird es unsere Aufgabe sein können, das Zellgerüst oder die Zellinhalte oder beide zu färben.

### I. Tinctionen des Zellgerüstes.

Da die Zellwände je nach ihrem Alter und je nach ihrer Natur sehr verschiedene Verwandtschaften zu den Färbemitteln besitzen, ja da die verschiedenen Theile der die Zelle umschliessenden Wand sich häufig jenen gegenüber sehr ungleich verhalten, so bieten die Färbemittel nicht nur Gelegenheit, verschiedene Gewebegruppen gegen einander abzugrenzen, sondern sie ermöglichen es auch, dem Baue der Zellwand selbst näher zu treten.

Am längsten bekannt sind in dieser Beziehung die Jodlösungen (p. 149), von denen wiederum das Chlorzinkjod das empfehlenswertheste ist. Es färbt Zellwände, die aus reiner Cellulose bestehen, violett, verholzte gelb, cutinisirte oder verkorkte (meist) braun. Behandeln wir also den Schnitt durch einen Pflanzenstengel mit Chlorzinkjodlösung, so wird (gewisse Ausnahmefälle ausgeschlossen) die Cuticula braun werden,

---

[1]) Das empfehlenswertheste Werk, welches wir hierüber besitzen, ist Strasburger, E., Das botanische Prakticum, Jena (Fischer), 1. Aufl. 1884, 2. Aufl. 1886, und der Auszug daraus: Das kleine botanische Prakticum. Daselbst 1884.

Epidermis und Rindenschichten, der Bast, die Collenchymlagen und das centrale Mark, sodann das Cambium färben sich violett, alle verholzten Parthien gelb, etwaige Korkschichten braun. Bei den verholzten Zellen ist jedoch von der Gelbfärbung bisweilen das Grenzhäutchen (tertiäre Verdickungsschicht) ausgeschlossen, da es mit Chlorzinkjod meist eine blaue Farbe annimmt, also unverholzt ist[1]. — Alle Jodtinctionen leiden an dem Uebelstande, dass sie nur sehr kurze Zeit haltbar sind, sie eignen sich also für Dauerpräparate (s. u.) gar nicht.

Die färbende Wirkung der oben (p. 114—144) aufgezählten Anilinfarbstoffe auf die Zellwand ist gleichfalls aus dem Grunde zu differenzirten Tinctionen zu verwenden, weil dieselben meist von den verholzten Zellgruppen aufgenommen werden, während die unverholzten sie entweder gar nicht oder in anderen und oft schwächeren Farbentönen aufspeichern.

Vom Anilinsulfat (p. 143) war dies seit den einschlägigen Untersuchungen Wiesner's bekannt; es färbt die verholzten Zellgruppen gelb (Xylemtheil, Gefässe in den Gefässbündeln, meist auch das Holzparemchym, den Bast theilweise, Gefässbündelscheide, Markzellen in der Nähe der Gefässbündel), während die unverholzten Zellen (Epidermis, Rindengewebe theilweise, Collenchym, Bast theilweise, Mark im Centrum des Stengels) völlig ungefärbt bleiben. Man lässt das Tinctionsmittel tropfenweise vom Rande her zu dem unter Deckglas in destillirtem Wasser liegenden Schnitte zutreten[2].

Das Safranin (p. 142) färbt ziemlich entsprechend dem Anilinsulfat. Der Xylemtheil der Gefässbündel, die diesem anliegenden, äussersten Marklagen, viele Rindenzellen, auch die Epidermis werden gewöhnlich kirschroth, sodann die Endodermis, die aber bisweilen roth mit einem Ton ins Gelbliche wird. Ungefärbt bleiben häufig das Mark und die Markstrahlen, von den Gefassbündeln der Bast mit Ausnahme der Siebröhren, welche rosenroth werden, endlich das Sklerenchym, von diesem wird jedoch bisweilen die Primärwand schwach roth tingirt. — Etwaige Ueberfärbungen werden durch Einlegen in absoluten Alkohol ausgeglichen. In neutralem Glycerin oder Glyceringelatine eingeschlossen, halten sich die Tinctionen sehr gut.

Auch das Corallin, ursprünglich zu anderem Zwecke in die mikroskopische Technik eingeführt, lässt sich nach Strasburger's Vorgange

---

1) Näheres bei Behrens, W., Hilfsbuch p. 267 ff., 275 ff., 280 f., 292, 297 f., 301.

2) Behrens, l. c. p. 281, 284.

sehr gut zu Tinctionen des Zellgerüstes verwenden. Es färben sich alle verholzten Elemente roth bis rothbraun, alle unverholzten blass rosenroth bis gelblich. Behandelt man dann das Präparat mit Kalilauge (STRASBURGER), so werden die unverholzten Zellgruppen (Markstrahlen, Cambiumring, Basttheile, unverholztes Grundgewebe) völlig farblos, während vorher die Bastfasern glänzend rosenroth, die Siebplatten rosa waren. Von den verholzten Zellgruppen sind z. B. tingirt die Gefässe dunkelroth, bräunlich oder rothbraun, die Tracheïden hochroth, die Sklerenchymlagen hellroth bis rothbraun.

Diffuse Tinctionen von noch nicht differenzirten Geweben (Meristemen) sind mit den meisten der oben aufgeführten Anilinfarbstoffen möglich (z. B. Methylgrün). Wenn jene Gewebe sehr zart sind, erleichtert man sich durch derartige Färbungen die Untersuchung derselben wesentlich.

Doppeltinctionen lassen sich z. B. durch Anwendung von Fuchsin-Methylviolett (p. 141) oder Eosin-Hämatoxylin (p. 148) hervorbringen. Eine Doppeltinction mit dem ersteren wurde bereits oben (p. 153) beschrieben. Sehr schöne Bilder liefert auch das Eosin-Hämatoxylin in der oben vorgeschlagenen Zusammensetzung. Es färben sich mit demselben z. B. die Epidermis, die Sklerenchymlagen und der Holztheil der Gefässbündel nebst den Gefässen fleischroth, der Basttheil der Gefässbündel violettroth, während das Rindenparenchym, das Holzparenchym und das Mark veilchenblau werden. Man behandelt die Schnitte etwa fünf Minuten lang mit dem concentrirten Gemisch, wäscht eine Minute lang in absolutem Alkohol ab, schwenkt durch destillirtes Wasser und untersucht in neutralem Glycerin, in dem sich die Tinctionen längere Zeit halten. Pikro-Nigrosin (p. 103) bringt gleichfalls eine sehr schöne Doppelfärbung hervor, indem es die verholzten Theile gelb, die nicht verholzten blaugrau färbt. Es lassen sich auch sehr schöne Doppelfärbungen herstellen durch Einwirkung einer Carminlösung (z. B. des BEALE'schen Carmins, p. 144) und nachträgliche eines Anilinfarbstoffes von möglichst abweichender Farbe (z. B. Gentianaviolett, Methylgrün); da der Carmin den Zellinhalt, soweit er plasmatischer Natur ist, und die Zellkerne, ferner reine Cellulosemembranen tingirt, die verholzten dagegen die Anilinfarbe annehmen, so können auf diese Weise sehr instructive Bilder entstehen.

### II. Tinctionen des Zellinhaltes.

Färbungen der Zellinhaltsstoffe sind sehr häufig von Nutzen, sofern dieselben nicht durch ihre natürliche Farbe (Chlorophyllkörnchen)

eine Tinction unnöthig machen. Protoplasmatische Substanzen färben sich mit Jodlösungen gelb bis bräunlich, Stärkekörner werden dadurch blau; wo letztere also sonst schwer in dem Plasmakörper zu erkennen sind, lassen sie sich durch Jodlösungen bequem nachweisen. Man hat Sorge zu tragen, dass die Lösungen nicht zu concentrirt seien, da sonst die Färbung leicht eine zu intensive wird.

Von ganz besonderer Bedeutung sind die Tinctionen für das Studium der Zellkerne geworden, und es ist überhaupt erst durch die Einführung geeigneter Färbemethoden möglich gewesen, sich einen Einblick in den Bau dieses wichtigen Organs zu verschaffen. Wir wollen daher hier einige von jenen Kernfärbemethoden beschreiben, wie sie von Flemming, Strasburger, Pfitzner und Anderen ausfindig gemacht wurden. — Wo es nur darauf ankommt, den Zellkern als solchen nachzuweisen, lässt sich das leicht durch Behandlung des frischen Schnittes mit Carmin oder sehr verdünnter Hämatoxylinlösung erreichen, von welchen Farbstoffen er den ersten mit hellrother, den letzten mit blauvioletter Färbung aufspeichert.

Handelt es sich nicht um ruhende Kerne, sondern um solche, die sich im Theilungszustande befinden und bei denen die Kerntheilungsfiguren darzustellen sind, so müssen die Präparate entweder vorher fixirt sein (p. 101) oder es ist zur Darstellung der Theilungsstadien ein solches Tinctionsmittel anzuwenden, welches neben der Färbung zugleich eine Fixirung zu Wege bringt. Als solche empfehlen sich z. B. beim Studium von Pollenmutterzellen (Strasburger) Methylgrün-Essigsäure (p. 143) oder Pikrinsäure-Nigrosin (p. 103). Von diesen bringt man zu dem Zweck einen grossen Tropfen auf den Objectträger, fasst mit der Pincette ein jugendliches Staubgefäss, drückt es mit einer Lanzettnadel in den Tropfen und quetscht es bis es platzt und die Pollenmutterzellen in die Färbeflüssigkeit übertreten. Das Präparat kann nach Auflegen eines Deckglases sofort untersucht werden.

Gewöhnlich wird man zum Zwecke von Kerntinctionen das zu schneidende Organ härten und fixiren, dann die Schnitte ausführen und nun erst zur Färbung der Kerne schreiten. Es ist besonders das in absolutem Alkohol fixirte Material, welches sich hier mit Vortheil verwenden lässt. Dieses färbt man dann z. B. mit Safranin (Flemming, Strasburger), Hämatoxylin oder Gentianaviolett (Moll).

Zu Safranin-Tinctionen wählt man vornehmlich Alkohol-Material. Schnitte von diesem überträgt man in ein Uhrgläschen mit der p. 142 beschriebenen Safraninlösung. Nach 6 bis 24 Stunden werden sie gut in absolutem Alkohol ausgewaschen, in Nelkenöl übertragen und sodann

in Damarharz (s. u.) eingeschlossen. — Will man mit Hämatoxylin tingiren, so bringt man die Schnitte aus Alkohol in destillirtes Wasser und aus diesem in verdünnte Hämatoxylinlösung (einige Tropfen auf ein Uhrglas voll Wasser). Werden hierin die Präparate überfärbt, so differenzirt man mit Alkohol, der eine Spur Salzsäure enthält, neutralisirt mit Wasser mit einer Spur Ammoniak, überträgt in absoluten Alkohol, dann in Nelkenöl und schliesst in Damar oder Chloroform- resp. Xylolbalsam (s. u.) ein. — Eine ganz treffliche Färbung der Kerntheilungsfiguren lässt sich (nach Moll) durch verdünnte Gentianaviolettlösung (p. 142) erhalten. Die in Pikrinsäure oder Flemming'scher Flüssigkeit (p. 101) gehärteten Organe werden in Paraffin eingebettet (p. 112) geschnitten, und die Schnitte nach unten zu beschreibender Methode auf den Objectträger geklebt. Man legt die Objectträger in absoluten Alkohol, dann auf einen Augenblick in destillirtes Wasser und nun für 6 bis 24 Stunden in die verdünnte wässerige Gentianaviolettlösung. Die Ueberfärbung wird, wie oben, mit absolutem Alkohol nebst einer Spur Salzsäure ausgeglichen, dann in Wasser mit einigen Tropfen Ammoniak neutralisirt, mit neutralem Alkohol ausgewaschen, dieser durch einen mit Fliesspapier fast ganz wieder zu entfernenden Tropfen Nelkenöl ersetzt und endlich in Xylol- oder Chloroformbalsam eingeschlossen. Die Figuren werden auf diese Weise in prächtig veilchenblauer Farbe erhalten. War gut neutralisirt, so halten sich die Präparate unverändert, ohne diese Farbe einzubüssen, anderseits werden sie bald gelbgrün und verblassen schliesslich gänzlich.

## III. Tinctionen mikroskopisch kleiner Pflanzen.

Zur Beobachtung ein- oder wenigzelliger Pflanzen ist es häufig erwünscht, dieselben im lebenden oder im todten Zustande zu tingiren. Nach den Untersuchungen von Brandt und Certes lassen sich Protozoën und einzellige Pflanzen, auch deren Schwärmsporen im lebenden Zustande tingiren, wenn man dem Süsswasser oder dem Seewasser, in welchem sie leben, kleine Mengen wasserlöslicher Anilinfarbstoffe zusetzt. Die Verdünnung dieser Farblösungen kann bis auf 1 : 500 000 und selbst weiter hinabgehen, sie darf aber wohl nie die Stärke von 1 : 1000 übersteigen, um das Weiterleben der Organismen nicht zu gefährden. Bismarckbraun (1 : 3—5000), Methylviolett oder Nigrosin (1 : 10—100 000) oder endlich Cyanin (1 : 10—500 000) lassen sich mit Vortheil verwenden. Bismarckbraun färbt nur die Fettkörnchen, lässt aber den Kern meist, das Protoplasma stets ungefärbt (Amöben),

wo eine celluloseartige Schleimsubstanz vorkommt (Flagellaten), wird diese tingirt. Cyanin färbt gleichfalls nur die Fettkörnchen. Mit Methylviolett, Nigrosin und vielen anderen Anilinfarbstoffen färben sich z. B. stark die „Nahrungsvacuolen“, mit vielen auch Kern, Chromatinsubstanz, Plasma; nie scheint sich die contractile Vacuole zu tingiren.

Sollen bei niederen Organismen gewisse Theile gefärbt werden, z. B. der Kern, so tödtet man dieselben vorher in einer Flüssigkeit ab, welche sie zugleich fixirt. Flagellaten und Aehnliches kann man in einem Uhrschälchen mit FLEMMING'scher Flüssigkeit (p. 101) abtödten und sodann in demselben mit BEALE'schem Carmin (p. 144) oder Pikrocarmin (p. 146) färben. Fadenalgen fixirt man in Chromsäure, Pikrinsäure oder FLEMMING'scher Lösung eine bis mehrere Stunden, wäscht sehr sorgfältig aus, tingirt mehrere bis 24 Stunden mit irgend einer Carminlösung, differenzirt eventuell mit Salzsäurealkohol und bewahrt in Glycerin. Diatomeen fixirt und färbt PFITZER gleichzeitig durch mehrstündiges Einlegen in Pikrinsäure-Nigrosin (p. 102). Dann wäscht man mit Wasser aus, überträgt in Alkohol und untersucht in Glycerin (Zellkerne und Nucleolen tief blau).

Von ganz besonderer Bedeutung ist im letzten Jahrzehnt die Färbung von Bacterien geworden, zu welchem Zwecke eine Unzahl von Methoden und auch von Farbstoffen in Vorschlag gebracht worden sind. Diese Färbungen werden gewöhnlich an Deckglastrockenpräparaten (p. 153) vollzogen, sie liefern zwar die Bacterien nur als völlig veränderte Kunstproducte, gestatten jedoch wenigstens, diese zum Theil äusserst schwer nachweisbaren Organismen unter dem Mikroskop wahrzunehmen. Wir wollen hier nur die von GRAM angegebene, für die meisten Bacterien anwendbare Färbemethode mit Gentianaviolett und Jodjodkalium anführen. Sie besteht darin, dass man Bacterien-haltige Deckglastrockenpräparate eine bis zwei Minuten in gesättigter, heisser Anilinwasser-Gentianaviolettlösung (p. 142) färbt. Am besten wird diese zu dem Zweck frisch dargestellt, indem man Anilinöl mit der 20fachen Menge Wasser schüttelt, filtrirt und soviel starker Gentianaviolettlösung zuträufelt, bis auf der Oberfläche der Lösung ein metallisch glänzendes Häutchen sich zeigt. Aus der heissen Gentianalösung kommen die Deckgläser sogleich auf 30 Secunden in Jodjodkaliumlösung (Jod 0·3, Jodkalium 0·6, Wasser 100) und werden dann so lange in öfters gewechseltem Alkohol ausgewaschen, bis derselbe farblos bleibt. Darauf untersucht man in Wasser oder, nach Verdrängung des Alkohols durch Nelkenöl, in Canadabalsam.

Einen grossen Widerstand setzten in vielen Bacterien die zu ge-

wissen Lebensperioden auftretenden Sporen den gewöhnlichen Färbemitteln entgegen. Während sich der übrige Bacterienleib tingirt, bleiben sie als farblose, eiförmige Pünktchen in denselben sichtbar. Will man umgekehrt die Sporen in den farblosen Bacterien gefärbt erhalten, so verfährt man (nach ZIEHL) folgendermaassen: Man kocht die Deckgläser mit den Bacterien eine Stunde lang in einer einprocentigen, wässerigen Fuchsinlösung, der auf 100 cc 10 cc Alkohol und 5 g krystallisirte Carbolsäure zugesetzt sind. Man lässt erkalten und wäscht so lange in Alkohol aus, bis nur noch die Sporen glänzend roth erscheinen, das Uebrige aber farblos geworden ist. Färbt man dann mit verdünnter Methylenblaulösung in Alkohol oder Gentianaviolett nach, so erhält man die Sporen als tiefrothe Perlenreihen in den tiefblauen Zellen.

In der letzten Zeit ist es auch gelungen, die bei manchen Bacterien vorkommenden Cilien oder Geisseln durch Färbung sichtbar zu machen. Es geschieht nach NEUHAUSS und LÖFFLER auf die Weise, dass man die auf die Deckgläser gestrichenen, noch nicht eingetrockneten Bacterien vor der eigentlichen Färbung mit einer tintenartigen Beize vorbehandelt. Diese besteht aus einer Campecheholzabkochung (10 cc), zu welcher man 20 cc einer 20procentigen Tanninlösung und einige Tropfen concentrirter Eisenoxydsulfat-Lösung gesetzt hat. Davon giebt man einige Tropfen auf das Deckglas und erwärmt zum Sieden und zum Trocknen. Nun wird mit Wasser sehr sorgfältig ausgewaschen und mit Anilinwasser-Gentianaviolett oder ZIEHL'schem Carbolsäure-Fuchsin gefärbt, welche gleichfalls heiss einwirken müssen. Einem abermaligen Abspülen mit Wasser folgt sofort die Untersuchung des Präparates.

---

## IX. Das lebende Object.

Mikroskopisch kleine Pflanzen, Algen, Pilze, Protophyten, bisweilen auch gewisse Organe höherer Gewächse sind nicht selten im lebenden Zustande der Beobachtung zu unterwerfen. Hierzu ist es nöthig, diese kleinen Wesen in der gewünschten Anzahl unter Deckglas zu bringen, ihnen dort Lebensbedingungen zu schaffen, die einem mehrstündigen Leben, oft auch einer längeren Weiterentwicklung nicht hinderlich sind, ihre allzustarken Bewegungen in engere Grenzen zu bannen, endlich sie auch wohl abzutödten, um der Beobachtung des lebenden Wesens die des todten folgen zu lassen. Zu allen diesen Dingen

sind gewisse Kunstgriffe erforderlich, die wir bislang noch nicht besprochen haben und die im Folgenden zu behandeln sind.

Das Auffangen mikroskopischer Pflänzchen und das Uebertragen derselben auf den Objectträger hat in dem Falle gar keine Schwierigkeiten, wenn in einer Flüssigkeit sehr grosse Mengen dieser Wesen vorhanden sind. Oft findet man Wasserpfützen, die von Milliarden darin befindlicher Algenschwärmsporen ganz grün gefärbt sind; sammelt man von diesem Wasser ein Fläschchen voll, so kann man daraus durch Uebertragung mit einem Glasstabe beliebige Mengen der Schwärmer unter Deckglas bringen. Bacterien und verwandte Organismen kommen gewöhnlich in so ungeheuerlichen Mengen in den ihnen als Substrat dienenden Flüssigkeiten vor, dass man sie vor der mikroskopischen Beobachtung verdünnen muss. Zu dem Zweck bringt man auf ein Deckglas einen Tropfen destillirten Wassers, hebt mit einem Platindraht, dessen Ende zu einer ovalen Oese umgebogen wurde, ein Wenig der bacterienhaltigen Flüssigkeit hervor und verreibt es in dem Wassertropfen („impft“ diesen mit Bacterien, wie die bacterioskopirenden Mediciner zu sagen pflegen). Um fremde, dem Draht anhängende Bacterienformen auszuschliessen, konnte man denselben vorher ausglühen („sterilisiren“). Legt man dann das Deckglas, mit der Tropfenseite nach unten, auf einen Objectträger, so ist das Präparat fertig.

Kommen aber in einer grösseren Flüssigkeitsmenge nur wenige Individuen des zu studirenden Wesens vor, so gelingt ihr Uebertragen unter das Mikroskop häufig nur durch Zufall; man hat dann bisweilen so lange Präparate herzustellen, bis sich gelegentlich einige der gewünschten Pflänzchen darin vorfinden. Mehr Aussicht auf rascheren Erfolg hat man, wenn die Formen so gross sind, dass sie eben noch mit blossem Auge oder mit schwacher Lupenvergrösserung gesehen werden können. Dann können sie auf folgende Weise aufgefischt werden. Man füllt in ein Uhrglas ein Wenig des sie enthaltenden Wassers und stellt dasselbe auf ein schwarz-weisses Cartonstück (p. 133) um die beste Unterlage für die Sichtbarkeit der zu fangenden Pflänzchen ausfindig zu machen. Das Auffangen selbst geschieht mit einer zur Capillare ausgezogenen Glasröhre, über deren dickes, offenes Ende man eine Kautschukkappe geschoben hat, oder man benutzt dazu einen hohlen Glasstöpsel, wie er in Figur 115 (p. 96) abgebildet ist. Man folgt, indem man auf die Kautschukkappe drückt, mit dem offenen Capillarenende unter Lupenbetrachtung dem in dem Uhrgläschen umherschwimmenden Pflänzchen, unterlässt im geeigneten Momente den Druck auf die Kautschukkappe, worauf es mit dem in die Capillare

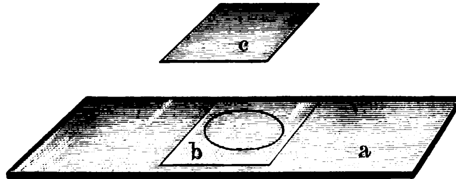
eintretenden Wasserstrom in diese hineingerissen wird. Nun nimmt man in die Linke einen Objectträger, tröpfelt durch Druck so viel Wasser aus der Capillare, bis das Pflänzchen in den austretenden Wassertropfen geräth und fängt diesen mit dem bereit gehaltenen Objectträger auf. —

Besitzen die Objecte eine sehr starke Eigenbewegung (Schwärmsporen), so ist es schwer oder wenigstens ermüdend, dieser Bewegung längere Zeit unter dem Mikroskope durch Verschieben des Objectträgers zu folgen. Man kann in diesem Falle die Bewegung dadurch hemmen oder auf kleinere Räume beschränken, dass man fädige Fremdkörper mit unter den Objectträger legt, gegen die die Schwärmsporen u. s. w. bei ihren Bewegungen stossen. Dazu eignen sich Abschnitte von menschlichen Haaren, oder bei grösseren Formen von Pferdehaaren, oder noch besser Glaswolle, die vorher in Wasser ausgewaschen wurde. Von dieser bringt man mehrere in einander geschlungene Fäden dergestalt mit unter das Deckglas, dass sie eine Art Netzwerk bilden, in dessen Maschen die kleinen Wesen gefangen gehalten werden.

Die Beobachtung lebender Wesen unter einem dem Objectträger direct aufliegenden Deckglase, also in einer sehr dünnen capillaren Wasserschicht eignet sich nur für wenige, kleine Formen. Grössere würden in einer solchen platt gedrückt und in ihren Bewegungen gehemmt und zeigen sich dem Beobachter dann nicht in ihrer normalen Erscheinung. Bei diesen muss man die umgebende Wasserschicht dadurch erhöhen, dass man kleine Wachskügelchen mit unter das Deckglas giebt, die man, wenn sie zu gross gerathen sind, durch nachträglichen Druck auf das Deckglas abplatten kann.

Meist jedoch wird man zur Beobachtung lebender Objecte auf eine capillare Wasserschicht ganz verzichten und dieselben in einen sogenannten hängenden Tropfen (p. 51) bringen. Man hat Objectträger hergestellt, welche in der Mitte einen halblinsenförmigen, hohlen Ausschliff besitzen. Um mittels eines solchen ein Präparat im hängenden Tropfen herzustellen, bestreicht man den Rand des Ausschliffes mit Vaseline, bringt auf ein Deckgläschen, das bedeutend grösser ist als der Ausschliff, einen kleinen Tropfen Wasser mit den zu studirenden Wesen, kehrt das Deckglas um, dass der Tropfen an seiner Unterseite hängt, und legt es so auf den Objectträger, dass der Tropfen über dem Ausschliff befindlich ist. Es klebt durch die Vaseline fest, und der Wassertropfen wird am Verdunsten gehindert. Die Organismen begeben sich häufig, ihrem Bedürfnisse nach Sauerstoff entsprechend, an den Rand des Tropfens und können dort bequem studirt werden. Diese einfachste

Form des hängenden Tropfens leidet jedoch an mehreren Uebelständen. Erstlich beeinträchtigt der als Zerstreuungslinse wirkende Concavausschliff des Objectträgers die Wirkung des Abbe'schen Beleuchtungsapparates, und zweitens ist das Object von jeder Luftzufuhr abgeschnitten. Das Erste vermeidet man dadurch, dass man einen gewöhn-

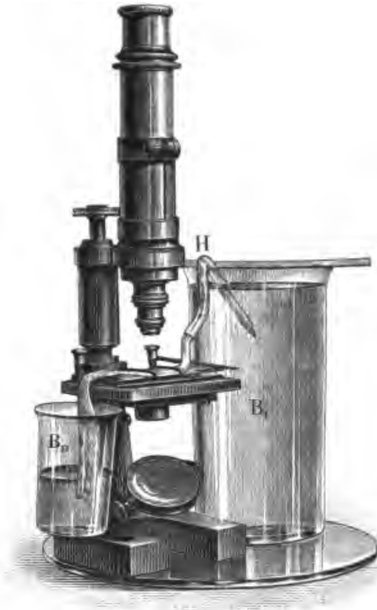



138.

lichen Objectträger ohne Ausschliff wählt (*a* Figur 138) und auf diesen vermittels Canadabalsam eine Glaszelle (*b*) klebt. Glaszellen sind quadratische Glasplättchen, die in der Mitte ein grösseres, kreisrundes Loch besitzen. Klebt man eine solche auf den Objectträger, so bildet das Loch mit demselben einen kleinen Trog von der Höhe des die Zelle bildenden Glastäfelchens. Bestreicht man dann wie vorhin die Oberseite von *b* mit Vaseline und legt das Deckglas *c* mit dem hängenden Tropfen nach unten auf, so ist die Vorrichtung fertig. Eine ähnliche, aber bessere, weil dem Luftdurchtritt zugänglich, entsteht, wenn man statt der Glaszelle einen Rahmen von Pappe (Figur 54 a. p. 53) nimmt, den man vorher mit Wasser durchtränkte. Noch Vollkommneres leisten die feuchten Kammern, von denen wir die Stricker'sche, die zugleich für Luftzufuhr eingerichtet ist, bereits auf p. 53 beschrieben und abgebildet haben. Alle diese Vorrichtungen kommen zur Beobachtung direct auf den Mikroskoptisch zu liegen. Ist es jedoch nöthig, die Organismen bei einer höheren Temperatur zu beobachten, so ist die Anwendung eines heizbaren Objecttisches geboten, dessen hauptsächlichsten Formen wir gleichfalls früher (p. 49—51) schon kennen gelernt haben.

Wenn sich ein längere Zeit zu studirendes, lebendes Object unter Deckglas auf dem Objectträger im Wasser befindet, so verdunstet dieses Wasser allmählig, und man muss dann vom Rande her zeitweilig einen Wassertropfen unter das Deckglas fliessen lassen. Allein hieraus ergiebt sich der Uebelstand, dass das Object allmählig in eine ganz andere Flüssigkeit gelangt, da ja die mineralischen Bestandtheile des Wassers nicht mit verdunsten, das Wasser unter dem Deckglas an diesen also

fortwährend reicher wird. Man hat daher zahlreiche Vorrichtungen ersonnen, welche eine andauernde und regelmässige Wasserzufuhr zu dem Objecte bezwecken; wir beschreiben hier den neuerlich von AF KLERCKER angegebenen Apparat, bei dem das Wasser vor dem Uebertritt unter das Deckglas Gelegenheit hat, Luft resp. Sauerstoff zu absorbiren, um diesen dem Objecte gleichfalls zuzuführen.

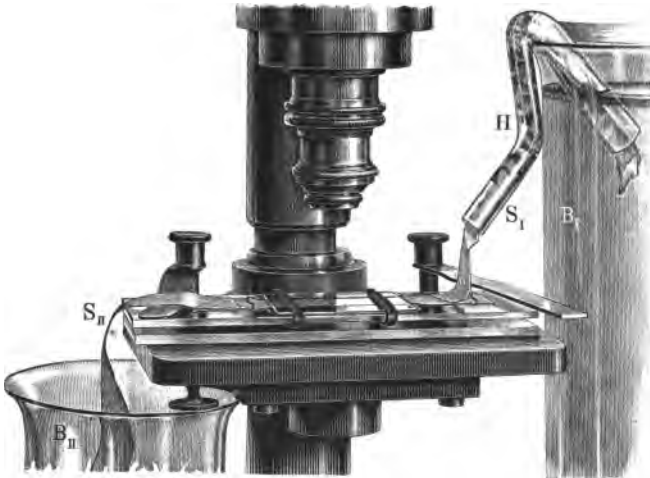


139.

Der das Wasser liefernde Behälter ist das mit einer Glasplatte bedeckte Becherglas $B_I$ (Figur 139); vermittels der Hebervorrichtung $H$ wird das Wasser auf das unter dem Mikroskop liegende Präparat geleitet und fliesst, nachdem es dieses durchströmt hat, in das kleine Becherglas $B_{II}$ ab. Die ganze Vorrichtung ist mitsammt den Bechergläsern so compendiös, dass das Mikroskop bei Unterbrechung der Beobachtung mit einer Glasglocke bedeckt werden kann. Figur 140 zeigt uns die Einzelheiten. Der Objectträger mit dem Präparat trägt dieses zwischen zwei seitlichen Streifen vom Deckglas; darüber liegt das bedeckende Deckglas, welches durch zwei schmale Gummiringe vor Verrückungen gesichert ist. Der Objectträger ist auf einen zweiten, leeren, dem Mikroskoptisch aufliegenden gelegt, weil sonst die am Tische adhärirenden Gummiringe ein Verschieben des Objectes erschweren würden. Bis unter das Deckglas reichen zwischen den seitlichen Deckglasleisten zwei Streifen von Leinwand ($S$ $S$). Ueber den Rand des Becherglases $B_I$ hängt das eigenthümlich gebogene Glasröhrchen $H$, durch welches ein Streifen Filtrirpapier $S_I$ gesteckt ist, der einestheils in das Wasser von $B_I$ taucht, anderntheils den zuführenden Leinwandstreifen $S$ berührt. Auf den abführenden Leinwandstreifen $S$ ist ein freiliegender Streifen von Filtrirpapier ($S_{II}$) gedrückt, der in das Becherglas $B_{II}$ führt. Die Wirkung der Vorrichtung ist leicht verständlich: $S_I$ in $H$ saugt das Wasser aus $B_I$ an, führt es auf den Leinwandstreifen $S$ über, es durchströmt das Präparat, $S_{II}$ saugt

es von dem ableitenden Leinwandstreifen ab und vermittelt sein tropfenweises Ueberfliessen in das Becherglas $B_{II}$. Die Stromgeschwindigkeit ist eine so langsame, dass in 24 Stunden gewöhnlich nur etwa 50 cc Wasser durchfliessen.

Es ist wohl eine Sache der Selbstverständlichkeit, dass lebende Objecte stets in derjenigen Flüssigkeit beobachtet werden, in welcher sie vegetiren. Man wird also z. B. Algen, die in Torf- oder Moorsümpfen vorkommen, in dem an gleichem Orte geschöpftem Wasser untersuchen,




140.

nicht in destillirtem oder Brunnenwasser; Brackwasseralgen werden in Brackwasser, Meeresalgen in Meerwasser untersucht. Denn nur dann wird ein Organismus weiter leben und sich weiter entwickeln, wenn ihm die umgebende Flüssigkeit die nöthige Nahrung bietet. Wo daher die natürlichen Nährflüssigkeiten zu Gebote stehen, wird man mit diesen stets die besten Erfolge erzielen, und nur dann wird man zu künstlichen Nährflüssigkeiten seine Zuflucht nehmen, wenn jene nicht vorhanden sind. Es ist ja richtig, dass viele niedere Pflanzen in dieser Beziehung nicht gar wählerisch sind (man kann z. B. bekanntermaassen Penicillium- oder Aspergillussporen in sehr vielen, organische Stoffe enthaltenden Flüssigkeiten zum Auskeimen bringen), andere sind darin hingegen sehr wählerisch. Da ist es denn jedem einzelnen Falle zu überlassen, das Passendste auszuwählen: bald wird man Pilzsporen in Decocten gewisser Früchte, andere in Mistdecocten u. s. w. cultiviren. Für Culturen von Saccharomyceten und ähnlichen Pilzen hat PASTEUR eine Nährlösung von folgender Zusammensetzung angegeben:

| | |
|---|---|
| Wasser, destillirt . . . . . | 100 cc |
| Candiszucker . . . . . . . | 10 g |
| Ammoniumtartrat . . . . . | 1 „ |
| Hefe (zu Asche verbrannt) . . | 1 „ |

Pollenschläuche lässt Strasburger in 5- bis 30procentiger Zuckerlösung auskeimen, der er zur Verhinderung des Ueberhandnehmens von Bacterien $^1/_{1000}$ Thymol zufügt.

Für bacteriologische Zwecke sind im letzten Jahrzehnt eine Unmenge von Culturflüssigkeiten in Vorschlag und Anwendung gebracht worden, deren blosse Aufzählung uns hier viel zu weit führen würde. Grosser Beliebtheit erfreut sich bei den Bacteriologen die Nährbouillon mit Pepton, deren Darstellung auf folgende Weise zu geschehen hat:

| | |
|---|---|
| Rindfleisch (fettfrei) . . . . | 500 g |
| Brunnenwasser . . . . . . | 1 l |
| Pepton . . . . . . . . . . | 10 g |
| Chlornatrium . . . . . . | 5 „ |

Man lässt das fein zerhackte Fleisch mit dem Wasser 24 Stunden lang im Eisschrank stehen, presst das Fleischwasser durch ein lockeres Tuch, setzt die übrigen Bestandtheile zu und erhitzt eine Stunde lang im Wasserbade. Dann wird concentrirte Natriumcarbonat-Lösung bis zur schwach alkalischen Reaction zugesetzt, eine weitere Stunde lang bei Siedhitze gekocht; man lässt erkalten und filtrirt durch Filtrirpapier. Um die nun fertige Nährbouillon längere Zeit zu bewahren, füllt man sie in sterilisirte Glaskölbchen, die man mit Wattepfropfen gut verschliesst und eine Stunde lang im Koch'schen Dampfapparat dem Einflusse strömenden Dampfes aussetzt. Die Nährbouillon eignet sich vortrefflich zu Bacterienculturen im hängenden Tropfen.

Nach dem Vorgange von Koch benutzt man die Nährbouillon auch zur Herstellung von durchsichtig erstarrenden, festen Nährböden, indem man ihr etwa 10 Procent Gelatine beimischt („Fleischwasserpeptongelatine“ der Bacteriologen). Diese lässt sich dann im warmen Zustande auf Objectträgern oder anderen Glasplatten („Plattenculturen“) ausgiessen und mit Bacterien beschicken („impfen“), welche in und auf der erstarrten Masse sich entwickeln, Colonien bilden und bequem mikroskopisch untersucht werden können. Die erfolgreiche Durchführung solcher Culturen setzt jedoch Vertrautsein mit einem grossen und complicirten Instrumentarium voraus, dessen Beschreibung den speciell der Bacterienkunde gewidmeten Werken obliegt. — Gelatineculturen lassen sich übrigens nicht nur für Bacterien, sondern auch für eine grosse Zahl anderer Pilze verwenden. —

Zum Schluss hätten wir noch zu erwähnen, wie man bewegliche

Organismen unter dem Mikroskope abtödtet, um sie im bewegungslosen Zustande studiren zu können. Man wählt dazu Mittel, welche dieselben möglichst wenig verändern; kann man ihren Zellinhalt dabei zugleich fixiren, so ist das für eine etwaige spätere Tinction von Vortheil. Gewöhnlich verwendet man zu dem Zwecke Essigsäure, Chromsäure oder FLEMMING'sche Mischung, welche Flüssigkeiten (im verdünnten Zustande) man vom Rande unter das Deckglas fliessen lässt. Man hebt das Deckglas nicht hoch, sondern man saugt am entgegengesetzten Rande vermittels eines Streifens Filtrirpapier die ursprüngliche Flüssigkeit vorsichtig fort, um dadurch den Zutritt des tödtenden Mittels zu beschleunigen.

---

## X. Beobachtungs- und Conservirungsmittel.

Im Verlaufe unserer Darstellungen ist mehrfach darauf hingewiesen worden, dass es nicht gleichgiltig ist, in welchem umgebenden Medium ein mikroskopisches Object zur Beobachtung gelangt. Es wurde vielmehr betont, dass die Sichtbarkeit eines ungefärbten Präparates in dem Maasse wächst, als es sich in seinem Brechungsquotienten für das Licht (p. 4) von dem umgebenden Mittel unterscheidet. Wir zeigten z. B. (p. 139), dass Diatomeenschalen in concentrirtem Glycerin unter dem Mikroskope kaum sichtbar sein können. In der folgenden Uebersicht geben wir einige als Beobachtungsmittel mikroskopischer Objecte in Frage kommender Stoffe nach ihren Brechungsindices geordnet:

| | |
|---|---|
| Luft | 1·000 |
| Wasser, destillirt, | 1·336 |
| Seewasser | 1·343 |
| Kaliumacetat in Wasser, concentrirt, | 1·347 |
| Zuckerlösung, 30procentig, | 1·347 |
| Alkohol, 40procentig, | 1·356 |
| Alkohol, absolut, | 1·367 |
| Glycerin 1 + Alkohol 1 + Wasser 1 | 1·394 |
| Glycerin 1 + Wasser 1 | 1·400 |
| Glycerin, concentrirt, | 1·470 |
| Cedernholzöl, verharzt, | 1·520 |
| Nelkenöl | 1·533 |
| Canadabalsam | 1·535 |
| Tolubalsam | 1·628 |
| Styrax | 1·630 |
| Monobromnaphthalin | 1·658 |
| Kaliumquecksilberjodid | 1·682 |

Diese Tabelle ermöglicht es uns, in dem Falle eine passende Beobachtungsflüssigkeit auszuwählen, wenn sich die verwendete in ihren Brechungsdifferenzen für das betreffende Object ungünstig erweist. Wendet man zum Studium schwieriger Objecte Systeme von sehr hoher numerischer Apertur (p. 24) an, also Oelimmersionen, so ist es zur Gesammtausnutzung der Apertur sogar geboten, dass das Object in einem Medium liege, welches mindestens den Brechungsindex 1·520 besitzt: man wird daher in diesem Falle als Beobachtungsmittel eins der in der Tabelle vom Cedernholzöl abwärts aufgeführten wählen.

Sind nun einestheils die Lichtbrechungsverhältnisse des Einschlussmittels von grösster Bedeutung für die Güte und Deutlichkeit des mikroskopischen Bildes, so ist es nicht minder wichtig, dass diese Mittel das Object auch conserviren. Das mikroskopische Object ist ja fast stets todt, es ist häufig auch durch die mannigfachen Proceduren des Härtens, Scheidens, Tingirens in einen von dem natürlichen sehr abweichenden Zustand versetzt worden; um so mehr ist es geboten, dass wir die natürlichen Verhältnisse desselben durch Auswahl unpassender Beobachtungsflüssigkeiten nicht noch mehr zerstören. Wir haben bei Besprechung der Aufhellungsmittel (p. 136) erfahren, dass sehr viele Flüssigkeiten die Fähigkeit besitzen, den Zellinhalt und auch die Zellwand in Lösung überzuführen. Wollten wir solche Stoffe als Beobachtungsmittel wählen, so würde sich häufig bereits unter den Augen des Beobachters das Präparat wesentlich verändern. Die Beobachtungsmittel müssen vielmehr zugleich Conservirungsmittel sein, und es ist in der That auch im Laufe der Zeit gelungen, solche in genügender Zahl ausfindig zu machen.

Die ersten Beobachter besahen ihre mikroskopischen Objecte ausschliesslich im trockenen Zustande von Luft umgeben und unbedeckt ohne Deckglas. Allein diese Methode ist eine sehr rohe und heutigentags nie mehr angewandte. Dann kam man auf den Gedanken, das Object zwischen zwei Glasplatten zu zerquetschen und zwischen diesen zu studiren. Auch diese Procedur konnte zu keinen befriedigenden Resultaten führen; es trat dann an die Stelle des Quetschens das Schneiden, und zwischen die beiden Glasplatten wurde ein Wassertropfen gethan, in dem sich der Schnitt befand. Damit war der Weg vorgezeichnet, den die Präparationsmethoden zu ihrer Vervollkommnung zu wandern hatten, und es bedurfte nur noch der Verwendung des Glycerins an Stelle des Wassers, um diese Methoden einen grossen Schritt vorwärts thun zu lassen. So benutzte man längere Zeit hindurch Glycerin und einige andere, unten aufzuzählende Flüssigkeiten ausschliesslich zu dem

gedachten Zweck. Viel später kam Jemand (wer? ist dem Verf. unbekannt) auf den Gedanken, an Stelle dieser Flüssigkeiten ein Mittel anzuwenden, welches das Object im flüssigen Zustande aufzunehmen hat, und welches später — etwa durch Erkalten — zum Erstarren gebracht wird, so dass nun das Object unverrückbar fest in demselben eingeschlossen ist. Canadabalsam und andere ähnliche Harze waren die ersten hierzu verwandten Stoffe; für die Botanik erwies sich später die Gelatine als passenderes derartiges Mittel. — Wir wollen nun im Folgenden einige der gebräuchlichsten Beobachtungs- und Conservirungsmittel besprechen, und wir wollen sie in flüssig bleibende und in erstarrende eintheilen.

**A. Beobachtungsflüssigkeiten.** Unter diesen nimmt das Glycerin die erste Stelle ein; ihm schliessen sich Chlorcalciumlösungen, sowie die Ripart'sche Flüssigkeit und einiges Andere an. Für manche Zwecke, wo nämlich die Verwendung von Flüssigkeiten mit hohem Brechungsindex angezeigt ist, sind Monobromnaphthalin und Kaliumquecksilberjodid zu nennen.

1. *Glycerin*, $C_3 H_5 3 (HO)$, bekanntlich eine dickliche, ölartige Flüssigkeit (im nahezu concentrirten Zustande) von wasserklarer Farbe, hat concentrirt ein specifisches Gewicht von 1·264, erstarrt bei + 17°, siedet bei 290° und zieht aus der Luft allmählig bis zu 50 Procent Wasser an. Es ist mit Wasser und Alkohol in jedem Verhältnisse mischbar, Aether und Chloroform löst es nicht. Von anderen, für mikroskopische Zwecke in Betracht kommenden Stoffen löst es: Alaun (40%), Borsäure (10%), Gerbsäure (50%), Jod (1·9%), Natriumbiborat (60%), Quecksilberchlorid (7·5%), Zinkjodid (40%). Im concentrirten Zustande hat es einen Brechungsindex von 1·470, nahezu concentrirt von 1·460, zur Hälfte mit Wasser verdünnt von 1·400, während ein Gemisch von Glycerin, Alkohol und Wasser zu gleichen Theilen (p. 101) einen solchen von 1·394 besitzt[1]. Durch Auflösen gewisser Stoffe in Glycerin lassen sich Flüssigkeiten von höherem Brechungsindex erzeugen. Cadmiumchlorid zur Sättigung in Glycerin gelöst, giebt eine Flüssigkeit von 1·504, Chloralhydrat desgleichen von 1·510, Zinkjodid von 1·560 Brechungsindex.

---

[1]) Die Angaben der Brechungsquotienten in diesem Capitel beruhen grösstentheils auf eigenen Bestimmungen, welche der Verf. mit dem Abbe'schen Refractometer ausgeführt hat.

Als Beobachtungsmedium verwendet man das Glycerin entweder im nahezu concentrirten Zustande, oder mit Wasser verdünnt, oder mit Zusatz verschiedener anderer Stoffe. Concentrirtes oder fast concentrirtes Glycerin besitzt aber, wie oben angegeben, in hohem Grade die Fähigkeit, Wasser anzuziehen und bringt dadurch eine Schrumpfung der in dasselbe übertragenen Objecte hervor. Wo daher zarte Objecte durch sofortiges Einlegen in starkes Glycerin leiden würden, verfährt man nach Prof. Cramer (briefliche Mittheilung) auf folgende Weise: Man bringt die geschnittenen Objecte, auch Algen, Florideen etc. in ein Uhrglas mit verdünntem, gewünschten Falls sehr verdünntem Glycerin und stellt dieses in den Chlorcalciumexsiccator, wo es 2 bis 8 Tage lang verbleibt. Die Verdrängung des Wassers kann auf diese Weise beliebig verlangsamt werden. Ist das Medium wasserfrei geworden, so überträgt man auf den Objectträger.

Zusätze von Carbolsäure, Sublimat oder Chlorcalcium zu reinem oder mit Alkohol vermischtem Glycerin werden nicht selten empfohlen und sind in der That auch für manche Objecte sehr zweckmässig. Die Mischung

| | |
|---|---|
| Glycerin . . . . . . . . . . . . . . . . | 80 cc |
| Alkohol, absolut, . . . . . . . . . . . . | 40 „ |
| Wasser, destillirt, . . . . . . . . . . . | 50 „ |
| Carbolsäure . . . . . . . . . . . . . . | 3 g |

ist bei undurchsichtigeren Objecten zu verwenden, weil der Carbolsäure-Gehalt eine ausgiebige, jedoch ganz allmählige Aufhellung dieser zu Wege bringt (vgl. auch p. 137).

Präparate, bei denen zarte Zellwände in möglichst natürlichem Zustande erhalten werden sollen, bringt man in die folgende Beobachtungsflüssigkeit:

| | |
|---|---|
| Glycerin . . . . . . . . . . . . . . . . | 40 cc |
| Alkohol, absolut, . . . . . . . . . . . . | 25 „ |
| Wasser, destillirt, . . . . . . . . . . . | 100 „ |
| Chlorcalcium . . . . . . . . . . . . . . | 20 g |

Sehr difficile Objecte halten sich bisweilen vortrefflich in verdünntem Glycerin, dem wenig Sublimat zugesetzt wurde:

| | |
|---|---|
| Glycerin . . . . . . . . . . . . . . . . | 80 cc |
| Wasser, destillirt, . . . . . . . . . . . | 80 „ |
| Quecksilberchlorid . . . . . . . . . . . | 1 g |

Gewünschten Falles kann man den Sublimatgehalt auch herabsetzen. Man sollte einen geringen Zusatz von Sublimat häufiger anwenden, da er die Präparate vor späteren Schimmelbildungen innerhalb derselben zuverlässig schützt.

Das Uebertragen der Schnitte in den auf dem Objectträger befindlichen Tropfen Glycerin oder Glycerin-haltiger Flüssigkeiten kann geschehen aus Wasser oder Alkohol, nicht aus Aether, Chloroform oder Nelkenöl. Wo diese letzteren drei Stoffe die Schnitte beherbergen, muss man sie zuvörderst durch Alkohol, in dem jene sich lösen, entfernen, spült dann mit reinem Alkohol nach, überträgt in destillirtes Wasser und aus diesem in das Glycerin.

2. *Campher-Chloralhydrat.* Verf. möchte die Aufmerksamkeit der Botaniker auf eine Beobachtungsflüssigkeit lenken, die äusserlich dem Glycerin sehr ähnlich ist, und die sich für die Conservirung vieler botanischer Präparationen nach seinen Untersuchungen eignet. Diese völlig wasserklare Flüssigkeit entsteht, wenn man zwei feste Körper, Campher und Chloralhydrat, zu etwa gleichen Theilen mit einander in einer Reibschale verreibt. Sie riecht intensiv nach Campher, hat ganz das Aussehen und die Consistenz von verdünntem Glycerin, unterscheidet sich von diesem aber durch den Brechungsindex, welcher etwa 1·50 beträgt [1]. Sie kann mit Vortheil da als Beobachtungsflüssigkeit gewählt werden, wo bei starken Oelimmersionen die gesammte numerische Apertur (p. 24) zur Ausnutzung gelangen soll und wo die Präparate ein Einlegen in die auf der Tabelle p. 167 vom Glycerin abwärts aufgezählten Stoffe aus irgend einem Grunde nicht vertragen. Denn zur Ausnutzung der gesammten Apertur homogener Immersionen einerseits und des Gesammteffectes des Abbe'schen Beleuchtungsapparates (p. 40) anderseits ist es bekanntlich nöthig, dass das Object sich in einem Medium befinde, welches wenigstens annähernd den Brechungsindex des Crownglases (1·52) besitzt. Zu diesem Zwecke möchte Verf. die vorgeschlagene Flüssigkeit empfehlen.

3. *Chlorcalciumlösung* wird nur selten als Beobachtungsflüssigkeit verwandt. Man benutzt eine concentrirte wässerige Lösung oder verdünnt diese mit dem gleichen oder doppelten Raumtheil Wasser. Auch der Zusatz einiger Tropfen Salzsäure wird empfohlen. — Gleichfalls wenig im Gebrauch ist:

4. *Kaliumacetatlösung*, im concentrirten Zustande zu benutzen. Dieselbe soll Chlorophyllkörner sehr gut conserviren.

---

[1]) Auch durch Zusammenreiben von Campher mit Para-Toluidin entsteht eine leichter bewegliche Flüssigkeit von noch etwas grösserem Lichtbrechungsvermögen. Ursprünglich nur ganz schwach gelblich gefärbt, leidet dieselbe aber an dem Uebelstande, dass sie sich mit der Zeit am Lichte bräunt.

5. *Ripart'sche Flüssigkeit*, deren Zusammensetzung bereits bei den Härtungsmitteln (p. 103) angegeben wurde, kann auch als Conservirungsmittel der dort genannten Objecte dienen.

6. *Sublimatlösungen*, bei den Zoologen als Beobachtungsflüssigkeiten vielfach im Gebrauch, finden bei den Botanikern zu diesem Zwecke wenig Anklang. Die von GODBAY angegebene Mischung:

| | | |
|---|---|---|
| Wasser, destillirt, kochend, . . . . . | 2·33 | l |
| Chlornatrium . . . . . . . . . . . . | 120 | g |
| Alaun . . . . . . . . . . . . . . . | 60 | „ |
| Sublimat . . . . . . . . . . . . . | 0·25 | „ |

dürfte sich jedoch hier und da, z. B. beim Studium niederster Pflanzen, wohl verwenden lassen.

7. *Monobromnaphthalin*, eine hellbräunliche Flüssigkeit, hat einen sehr hohen Brechungsindex (1·658). Sie eignet sich vortrefflich zum Studium der Structuren sehr schwer lösbarer Diatomeen, deren Kieselsäureskelett einen Brechungsindex von etwa 1·430 besitzt. Von Testdiatomeen (p. 58—61) sollten z. B. Nitzschia curvula Sm., N. linearis Sm., Frustulia saxonica Rabh. und Amphipleura pellucida Ktzg. in Monobromnaphthalin liegend zur Verwendung kommen. In noch höherem Maasse ist für letzteres Object das

8. *Kaliumquecksilberjodid* geeignet, welches einen Brechungsindex von 1·682 besitzt, wenn es concentrirt ist. Man bereitet dasselbe, indem man

| | | |
|---|---|---|
| Quecksilberjodid . . . . . . . . . . . | 65 | g |
| Kaliumjodid . . . . . . . . . . . . . | 50 | „ |
| Wasser, destillirt, . . . . . . . . . . | 25 | cc |

in der Kälte zusammengiebt und umschüttelt, bis sich Alles zu einer getrübten, gelbbräunlichen Flüssigkeit gelöst hat. Diese wird durch Filtrirpapier in ein ganz trockenes Glas filtrirt, sie ist prachtvoll schwefelgelb und von hohem specifischen Gewichte (3·16). Nicht ganz concentrirte Lösungen lassen sich durch monatelanges Verweilen im Chlorcalcium-Exsiccator concentriren, sie scheiden dann schliesslich kleine, in der Flüssigkeit flottirende Krystallblättchen aus. — Das Kaliumquecksilberjodid lässt sich auch zum Studium des Zellgerüstes höherer Pflanzen verwenden, jedoch quellen die Zellwände in demselben nach kürzerer Zeit.

**B. Erstarrende Beobachtungsmittel.** Die der Beobachtung und der Conservirung dienenden erstarrenden Mittel sind entweder harziger Natur und alsdann von hohem Brechungsvermögen (von 1·53 aufwärts), oder es sind Mischungen von Glycerin mit Gummi oder leimartigen Substanzen, und dann vom Brechungsindex unter 1·50. Zumal die letzteren sind für die Zwecke des Botanikers geeignet, während die ersteren, dem Zoologen unentbehrlich, für pflanzliche Präparationen seltener in Gebrauch sind.

1. *Glycerin-Gummi* wird nach HOYER folgendermaassen dargestellt. Ein hohes, ca. 60 cc fassendes Glas füllt man zu zwei Drittel mit Stücken von sehr reinem Gummi arabicum und giesst soviel Wasser, welches 5 bis 10 Procent Glycerin und wenige Procent Chloralhydrat enthält, hinzu, dass die Gummistücke ganz davon bedeckt sind. Unter häufigem Umschütteln löst sich das Gummi in einigen Tagen zu einer syrupartigen Flüssigkeit, welche filtrirt zum Gebrauch fertig ist (für Carmin- oder Hämatoxylintinctionen). Gummi in Kaliumacetat gelöst soll sich dagegen für Anilintinctionen eignen. — Das Uebertragen der Objecte in das Glyceringummi geschieht am besten aus Glycerin. Man bringt einen Tropfen der Gummilösung auf den Objectträger, versenkt den Schnitt mit einer Lanzette in denselben und legt, unter Vermeidung von Luftblasen, das Deckglas auf. Nach längerer Zeit trocknet dann, vom Deckglasrand beginnend, das einschliessende Medium ein, bleibt aber in der Mitte um das Präparat herum stets flüssig. Dieses Medium steht also zwischen den erstarrenden und den flüssigbleibenden gleichsam in der Mitte.

2. *Glycerin-Gelatine.* Die Glyceringelatine findet seit etwa zehn Jahren in der Botanik die ausgedehnteste Anwendung als Einschlussmittel mikroskopischer Objecte, sie wird am besten nach der von KAISER angegebenen Methode bereitet.

| | |
|---|---|
| Wasser, destillirt, . . . . . . . . . . . | 42 cc |
| Glycerin . . . . . . . . . . . . . . . | 38 „ |
| Gelatine . . . . . . . . . . . . . . . | 7 g |
| Carbolsäure . . . . . . . . . . . . . | 1 „ |

Man lässt die Gelatine etwa 2 Stunden lang in dem Wasser weichen, fügt das Glycerin zu und erwärmt bis zur Lösung der Gelatine. Es wird nun die Carbolsäure zugesetzt und so lange (etwa eine Viertelstunde lang) unter Umrühren erhitzt, bis die beim Hineingeben der Carbolsäure entstandenen weisslichen, flockenartigen Trübungen vollkommen verschwun-

den sind. Darauf filtrirt man noch heiss durch angefeuchtete Glaswolle und lässt erkalten (man vergl. auch p. 107 f.).

Die Glyceringelatine stellt bei gewöhnlicher Temperatur eine feste, aber elastisch-weiche Masse dar, welche eine hellgelblichbräunliche Farbe besitzt und ziemlich dünnflüssig wird, wenn man sie auf 35 bis 40° erwärmt. Sie besitzt einen Brechungsindex von etwa 1·4 und lässt sich wegen des Carbolsäuregehaltes jahrelang unverdorben aufbewahren.

Um mikroskopische Objecte in die Gelatine zu übertragen, sind verschiedene Methoden angegeben worden. Die schlechteste ist jedenfalls die, dass man aus dem erstarrten Gelatinevorrath mit einem Messerchen einen kleinen Würfel herausschneidet, diesen auf den Objectträger legt und letzteren erwärmt. Hierdurch wird man fast ausnahmlos Luftblasen in die verflüssigte Gelatine bekommen; trotzdem findet man in den meisten einschlägigen Werken diesem Verfahren ein Loblied gesungen. Viel besser und bequemer wird man mit der Gelatine arbeiten, wenn man sie, noch flüssig, in kleinere, dünnwandige Reagenscylinder filtrirt, die man etwa zur Hälfte damit anfüllt und verkorkt. Will man ein Präparat mit Gelatine verfertigen, so lüftet man den Kork eines solchen Cylinderchens, erwärmt die oberste Schicht der Gelatine durch eine kleine Spiritusflamme bis zur Verflüssigung, hebt mit einem durch die Flamme gezogenen Glasstabe einen Tropfen heraus und giebt ihn auf die Mitte eines schwach erwärmten Objectträgers. Nun bringt man den oder die Schnitte aus Glycerin in den warmen Tropfen, ordnet mit Nadeln und legt ein Deckglas in der Weise auf, wie es auf p. 135 beschrieben wurde.

3. *Glycerin-Hausenblasenlösung.* Die Glyceringelatine leidet — wenigstens alle vom Verf. darauf hin geprüften Sorten derselben — an einem unangenehmen Fehler: sie nimmt mit der Zeit, nach Monaten und Jahren, eine dunkele Färbung an. Das macht sich zwar nur dann sehr bemerklich, wenn die Gelatine in Glasgefässen aufbewahrt wird, weniger, wenn sie als sehr dünne Schicht sich im mikroskopischen Präparat befindet. Verf. suchte daher nach einem Ersatz für die Gelatine, welche diesen Uebelstand nicht aufweist, und fand einen solchen in der Hausenblase, mit dem sich ähnlich hergestellte Gemische seit 1884 völlig wasserklar erhalten haben. Man nehme

| | |
|---|---|
| Hausenblase . . . . . . . . . . . . . | 25 g |
| Campherwasser . . . . . . . . . . . . | 100 cc |
| Glycerin . . . . . . . . . . . . . . | 100 „ |

Campherwasser erhält man, indem man destillirtes Wasser einige Tage lang mit kleinen Campherstückchen in Berührung lässt und dann

filtrirt. Dieses wird zum Sieden erhitzt, die Hausenblase darin zur Lösung gebracht, und in das kochende Gemisch trägt man 100 cc ziemlich concentrirtes Glycerin. Das ganze wird unter Umrühren noch so lange im Kochen erhalten, bis es stark schäumt; dann filtrirt man wie oben noch heiss durch feuchte Glaswolle. — Die erhaltene Mischung ist erkaltet wasserklar, wird ebenso wie Glyceringelatine behandelt und eignet sich zur Conservirung botanischer Objecte vortrefflich. Ihr Brechungsindex ist nur wenig höher als der der Glyceringelatine.

4. *Canadabalsam* ist eine im Handel zu beziehende, schwach gelbliche, dickliche Flüssigkeit, welche ein amorphes Harz und etwa 25 Procent Terpentinöl enthält; sie wird in Nordamerica aus Abies balsamea und A. canadensis gewonnen. Der Brechungsindex reinen Balsams beträgt 1·535, er ist vollkommen löslich in Aether, Chloroform, Nelkenöl, Terpentinöl, Cedernholzöl, Benzol, Xylol, unvollkommen löslich in absolutem Alkohol, Benzin und Schwefelkohlenstoff. Die klaren Lösungen des Harzes trüben sich durch Alkohol-Zusatz. Wird käuflicher Canadabalsam längere Zeit erhitzt, so verflüchtigt sich das Lösungsmittel des Harzes und letzteres bleibt als feste, gelbbraun durchscheinende Masse zurück.

Man kann entweder den käuflichen Balsam als solchen benutzen, oder besser, man stellt sich aus demselben das feste Harz dar und löst dieses in Terpentinöl, Benzol, Chloroform oder Xylol. Der käufliche, möglichst klare Balsam wird zunächst in einer Schale mehrere Stunden lang nicht zu gelinde erhitzt, wodurch er hart wird und zugleich alle Feuchtigkeit verliert. Hat er durchweg eine harte, glasige Beschaffenheit angenommen, so zerschlägt oder zerstösst man ihn in kleine Stückchen. Diese werden in einem Gefäss mit Benzol (Phenylwasserstoff, nicht Benzin) oder Terpentinöl oder Chloroform oder Xylol übergossen, je nachdem man Benzol-, Terpentin-, Chloroform- oder Xylol-Balsam darstellen will. In diesen Stoffen wird sich das Harz binnen kurzem lösen. Dann wird ein weiterer Zusatz von Benzol etc. gemacht, bis die Flüssigkeit so verdünnt ist, dass sie sich durch Filtrirpapier filtriren lässt. Man filtrirt in ein weithalsiges Glas und lässt dieses, mit Papier bedeckt, an einem warmen, staubfreien Orte so lange stehen, bis alles überschüssige Benzol etc. verdunstet ist, und die Flüssigkeit die Consistenz eines dünnen Syrups angenommen hat. Wird durch längeres Stehen der Balsam zu dickflüssig, so kann man mit Benzol etc. nachträglich wieder verdünnen. Zum bequemen Gebrauche und um ein Verdunsten des Lösungsmittels thunlichst zu verhüten, füllt man

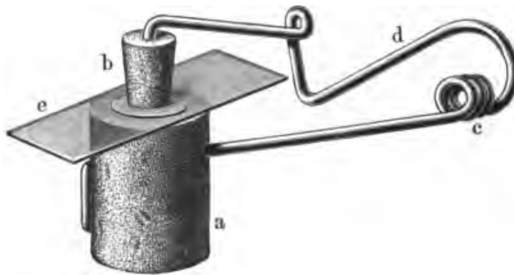
den fertigen Balsam in die käuflich zu beziehenden Malertuben, deren untere Oeffnung man nach geschehener Füllung mehrfach umbiegt und mit einer Flachzange zusammenkneift. —

Das Uebertragen der Objecte in Canadabalsam ist umständlicher als bei den bislang beschriebenen Einschlussmitteln. Liegen dieselben in Glycerin oder Glycerin-Alkohol-Gemisch, so verdrängt man diese zunächst durch destillirtes Wasser, das Wasser durch Alkohol, den Alkohol durch Nelkenöl oder auch durch Benzol, Terpentinöl, Chloroform, Xylol, wenn letztere Stoffe das Lösungsmittel des Balsams sind. Erst aus Nelkenöl resp. den übrigen Stoffen kann das Object in Balsam eingelegt werden. Zu dem Behuf erwärmt man einen Objectträger über einer kleinen Spiritusflamme gelinde und giebt einen Tropfen Balsam darauf. Zeigen sich in letzterem Luftblasen, so müssen dieselben entfernt werden. Das geschieht, indem man sie mit einer ziemlich warm gemachten Präparirnadel von oben ansticht, wodurch sie platzen. Nun bringt man das Object in den Balsam, wobei man darauf zu achten hat, dass derselbe dieses allseitig umgiebt. Es wird darauf ein schwach erwärmtes Deckglas aufgelegt. Verfährt man mit Sorgfalt so, wie es auf p. 135 angegeben ist, so wird man keine Luftblasen unter das Deckglas bekommen; diese können übrigens überhaupt leicht dadurch vermieden werden, dass man das Deckglas vor dem Auflegen auf der Unterseite mit Terpentinöl bepinselt. Ist der Balsam auf der erkaltenden Glasplatte inzwischen etwas zu dickflüssig geworden, so erwärmt man den Objectträger sehr schwach über einer Flamme. — Sehr zarte Objecte überträgt man am besten aus absolutem Alkohol, in dem sie mindestens eine Stunde lang gelegen haben sollen, sogleich auf den Objectträger und zieht den überschüssigen Alkohol mit Filtrirpapier fort, wobei das Präparat nicht ganz trocken werden darf. Jetzt trägt man seitlich am Object einen Tropfen Nelkenöl auf und lässt denselben wenige Minuten einwirken; er wird das Präparat alsbald durchtränken. Man legt nunmehr das Deckglas auf, bringt an den Rand des letzteren einen Tropfen Balsam, indem man gleichzeitig am entgegengesetzten Rande mit Filtrirpapier das Nelkenöl möglichst auszieht.

Bei den in Balsam montirten Objecten muss dieser jetzt durch allmähliches Verdunsten seines Lösungsmittels hart werden. Lässt man solche Präparate an der Luft liegen, so vollzieht sich der Vorgang von selbst. Man kann ihn beschleunigen, indem man die Präparate in der Sonne (Anilintinctionen verblassen im Sonnenlicht!) oder auf eine warme Ofenplatte legt. Sie müssen horizontal liegen, damit das Deckglas mit dem noch weichen Balsam seine Lage nicht ändern kann. Während des

Trocknens ist es häufig gut, einen gelinden Druck auf das Deckglas auszuüben. Das ist sehr bequem durch den kleinen Apparat Figur 141 zu bewerkstelligen, den man sich in wenigen Minuten selbst herstellen kann. Ein grosser (*a*) und ein kleiner Korkstopfen (*b*) werden durch einen starken Messingdraht *d* von der Form verbunden, wie sie die Abbildung verdeutlicht. Der Draht hat bei *c* eine als Feder wirkende Spirale, durch deren Druck der Kork *b* auf die horizontale Endfläche von *a* gedrückt wird. Man sieht in der Figur ein Balsampräparat *e* so zwischen die beiden Körke geschoben, dass *b* mit seiner horizontalen Unterseite das runde Deckgläschen auf *e* presst.

Die Balsampräparate sind trocken, wenn sich das Deckglas auch am erwärmten Präparat durch seitlichen Druck nicht mehr verschieben lässt. Dann kratzt man mit einem Messer den seitlich am Deckglas hervorgequollenen Balsam ab, entfernt die letzten Spuren desselben mit




141.

einem in Terpentinöl getauchten Lappen und spült mit Alkohol und Wasser nach. Statt Terpentinöl kann man auch ein Gemisch von Alkohol und Aether nehmen.

5. *Dammarharz* ist das Harz von Dammara orientalis, kommt in platten, gelblichen, glasartigen Stücken in den Handel, ist leicht zu weissem Pulver zu zerreiben, schmilzt vollständig bei 150°, löst sich vollkommen in Aether, Chloroform, Terpentinöl, Benzol, Xylol, theilweise auch in Alkohol; Lösungen desselben werden durch Alkohol-Zusatz trübe. Man wendet es in der mikroskopischen Technik an Stelle des Canadabalsams in Xylol oder Terpentin gelöst an, und stellt diese Lösung (nach Martinotti) folgendermaassen dar. Das gepulverte Harz übergiesst man mit viel Xylol und lässt es in geschlossener Flasche einige Tage stehen. Es löst sich, die Unreinigkeiten bleiben als Bodensatz zurück und werden durch Decantiren entfernt. Man filtrirt durch Filtrir-

papier und lässt das überschüssige Xylol im Wasserbade verdunsten. Es entsteht eine dem Canadabalsam ähnliche, dickflüssige, citronengelbe Flüssigkeit, die man gewünschten Falles mit Terpentinöl verdünnen kann, wodurch sie dünnflüssig und heller wird. Beide Lösungen — vom Darsteller freundlich mitgetheilt — eignen sich zur Conservirung pflanzlicher Objecte vortrefflich, z. B. für Kerntheilungen, die mit Anilinfarben tingirt wurden; sie sind für diese dem Canadabalsam entschieden vorzuziehen. Die Behandlung ist die gleiche wie beim Canadabalsam.

6. *Styraxbalsam.* Wo es sich darum handelt, Diatomeen-Testobjecte (p. 58) in ein harziges Mittel von hohem Brechungsindex einzuschliessen, wählt man dazu zweckmässig den Styraxbalsam (Brechungsindex 1·630). Der Styraxbalsam wird gewonnen von Liquidambar styraciflua, ist löslich in Alkohol, Aether und Chloroform. — Nach Marsson bereitet man die für mikroskopische Zwecke gebräuchliche Lösung, indem man den grauen Handelsstyrax mit der gleichen Menge Chloroform unter häufigem Umschütteln 8 Tage lang in Berührung lässt. Es scheiden sich zwei Schichten ab; die untere enthält die Styraxlösung. Man giesst die braune Styraxlösung auf ein mit Chloroform benetztes Filter, verdampft das klare Filtrat bis zur dünnen Syrup-Consistenz, bringt es in eine grosse Flasche und setzt nach und nach viel Petroleumäther hinzu. Allmählich entsteht eine milchige Trübung von sich ausscheidendem Styrax. Ist durch weiteren Petroleumätherzusatz aller Styrax gefällt, so giesst man die Flüssigkeit ab, schüttet den Balsam nochmals mit Petroleumäther aus und verdampft ihn im Wasserbade bis zur steifen, braunen, klaren, fadenziehenden Masse. Diese wird zur Hälfte mit Monobromnaphthalin (p. 172) versetzt und erwärmt, wodurch sich eine völlig klare Lösung bildet, die sich wie Canadabalsam behandeln lässt.

---

# XI. Herstellung mikroskopischer Dauerpräparate.

Wir haben im Laufe des zweiten Abschnittes gelernt, wie man pflanzliche mikroskopische Objecte herstellt: wie man sie zum Schneiden vorbereitet, wie dies Letztere selbst zu geschehen hat, wie man die gefertigten Schnitte weiter behandelt, wie man sie färbt und in welche Beobachtungs- oder Conservirungsflüssigkeiten man dieselben einlegt, um sie unter dem Mikroskope studiren zu können. Es wird nun häufig

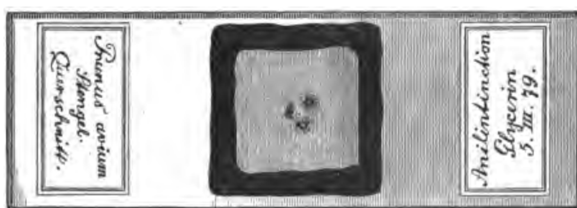
der Fall eintreten, dass man gelungene Präparate auch nach der Beobachtung aufbewahren will, um sie später wiederholt betrachten und sich ihre Eigenheiten leicht ins Gedächtniss zurückrufen zu können. Es ist sogar nöthig, dass Derjenige, welcher sich anhaltend mit mikroskopischen Beobachtungen beschäftigt, eine ganze Sammlung mikroskopischer Präparate anlegt. Je systematischer bei der Anlage einer solchen Sammlung verfahren wird, um so grösseren Nutzen wird der Besitzer von derselben haben, und je mehr er sich bestrebt, Lücken in derselben auszufüllen, um so brauchbarer wird sie werden. Wird zur Anlage einer derartigen Sammlung geschritten, so ist natürlich vor Allem dahin zu wirken, dass sie zunächst einen allgemeinen Ueberblick über die gesammte Pflanzenanatomie gewähre. Die praktischen Curse in den botanischen Instituten zielen ja in erster Linie darauf hin, einen solchen zu geben: hebt man sich also alle bei dieser Gelegenheit verfertigten Präparate auf, so wird mit ihnen ein guter Grund für eine Sammlung gelegt sein. Wollte man sich die dort verfertigten Präparate nur ansehen und sie dann fortwerfen, so würde man bald zu der Ueberzeugung kommen, dass es sehr schwer ist, mikroskopische Präparate im Gedächtnisse zu behalten. Nur ein zu verschiedenen Zeiten wiederholtes Studium desselben Objectes lässt deren gesammten Eigenheiten erkennen und behalten. Beginnt nun der Vorgeschrittene gar mit eigenen Untersuchungen, so dienen ihm die aufbewahrten Präparate als Belege seiner neuen Beobachtungen und sind als solche völlig unentbehrlich.

Bei der Anlage und der Fortführung einer Sammlung mikroskopischer Präparate hat man unseres Erachtens auf zwei Dinge vornehmlich zu achten, nämlich auf Gleichförmigkeit der Präparate und auf Sauberkeit derselben. Die Gleichförmigkeit der Präparate ist ja leicht zu erreichen, wenn man stets dasselbe Format für die Objectträger (p. 94) wählt. Auf welches Format die Wahl fällt, ist ganz gleichgiltig, nur benutze man nicht kleine und grosse neben einander. Zum leichten Auffinden müssen in einer grossen Sammlung die Präparate nach einem gewissen Schema geordnet sein, man muss neuerlich angefertigte zwischen die älteren einschieben können, und das ist nur möglich, wenn sie alle dasselbe Format besitzen. Viel schwieriger als die Gleichförmigkeit ist die Sauberkeit der Präparate zu erreichen: ja man möchte behaupten, dass sich in der Darstellung der mikroskopischen Präparate ein grosses Stück der Individualität des Darstellers offenbart. Wem die Mutter Natur von Haus aus Ordnungssinn verliehen hat, wird seiner Sammlung von selbst ein sauberes Aussehen geben.

Wem jene Tugend fehlt, dem wird das Aussehen seiner Sammlung ganz gleichgiltig sein. Verf. hat Präparate von theilweise hervorragenden Mikroskopikern in Besitz, die er wenigstens anderen Leuten nicht überreichen möchte: die Deckgläser bestehen aus zerbrochenen Fragmenten von solchen, die Objectträger sind geschrammt und mit reichlichem Ueberschuss von Canadabalsam beladen, die Etiquetten aus schief geschnittenen, schmutzigen Papierstückchen bestehend u. s. w. Solches Aussehen sollte aber wenigstens vermieden werden, ein Jeder kann statt eines zerbrochenen Deckglases ein heiles nehmen, kann das Präparat etwa in die Mitte des Objectträgers bringen, überschüssigen Balsam entfernen, gleichmässige und saubere Etiquetten verwenden. Man kommt ganz unwillkürlich darauf, zwischen solchen Präparaten und den daran gemachten Beobachtungen gewisse Parallelen zu ziehen!

Fragen wir uns nun, welche Eigenschaften ein aufzubewahrendes Präparat, ein sogenanntes Dauerpräparat, haben muss, so ist die Antwort darauf: 1) das Object selbst muss tadellos sein, 2) es muss in einem Medium eingeschlossen sein, in welchem es sich nicht verändert, 3) dieses Medium muss, wenn es eine Flüssigkeit ist, hermetisch gegen aussen verschlossen sein, 4) das Object muss sowohl mit schwachen wie mit starken Vergrösserungen zu studiren sein, 5) das Präparat muss eine genaue Bezeichnung seines Inhaltes tragen.

In Figur 142 sehen wir ein fertiges Dauerpräparat abgebildet. Es befindet sich in der Mitte des Objectträgers; wie die linke Etiquette




142.

ausweist, sind es drei Querschnitte durch den jungen Stamm von Prunus avium; die rechte Etiquette lehrt, dass sie mit Anilin tingirt wurden, dass sie in Glycerin liegen, und dass das Präparat am 5. März 1879 verfertigt wurde. Die im Glycerin liegenden Schnitte sind mit einem viereckigen Deckglase von 18 mm Seitenlänge bedeckt, und dieses ist mit einem abschliessenden Rahmen von schwarzem Asphaltlack umgeben.

Wie man das Object in die Conservirungsflüssigkeit auf den Objectträger überträgt, wurde bereits im vorigen Abschnitte bei den einzelnen

Einschlussmedien beschrieben, desgleichen wissen wir, wie das Auflegen des Deckglases zu geschehen habe, damit Luftblasen unter demselben vermieden werden. Dagegen wird es in erster Linie die Aufgabe dieses Abschnittes sein, auseinanderzusetzen, wie es gelingt, das Object genau in die Mitte unter das Deckglas zu bekommen, und zweitens, wie man einen hermetischen Verschluss der unter Deckglas befindlichen Flüssigkeit nach aussen hin zu Stande bringt.

Wenn man ein Object in einen Flüssigkeits-, sagen wir Glycerin-Tropfen auf den Objectträger bringt und nun das Deckglas noch so behutsam auflegt, so wird es sich häufig ereignen, dass das Object mit der sich zwischen den beiden Glasplatten ausbreitenden Flüssigkeitsschicht nach dem Rande des Deckglases hingeschwemmt wird. Dort aber soll später der Lackrahmen angebracht werden, welcher dann das Object verdecken würde. Selbst wenn das Präparat nur in der Nähe des Lackrahmens liegt, würde dasselbe für die Beobachtung mit starken Systemen unbrauchbar sein, denn bei diesen ist der Focalabstand ein so geringer, dass die Dicke des Lackrahmens eine genügende Annäherung an das Präparat vereiteln würde. Hier helfen uns die zumal in neuerer Zeit ausgebildeten Aufklebemethoden, Proceduren, welche das Object vor dem Einschliessen unverrückbar fest mit dem Objectträger vereinigen.

Das Aufkleben der Schnitte auf den Objectträger kann auf verschiedene Weisen bewerkstelligt werden; einige für unsere Zwecke empfehlenswerthe Methoden sind die folgenden:

1. *Aufkleben mit Glycerin-Gelatine* (Fol). Man verwendet hierzu die oben beschriebene Glycerin-Gelatine (p. 173), welche man bis zum Flüssigwerden erwärmt. Mit einem kleinen Pinsel holt man ein winziges Tröpfchen derselben hervor und pinselt es in äusserst dünner Lage durch zarte Pinselstriche auf die Mitte eines schwach erwärmten, ganz reinen Objectträgers. Nun überträgt man mit einem zweiten Pinsel die in Glycerin liegenden Objecte, wobei man Sorge trägt, dieselben von überschüssigem Glycerin thunlichst zu befreien. Man ordnet sie, indem man gleichzeitig den Objectträger, die Gelatineseite nach oben, durch eine kleine Flamme zieht. Ist ihre Lage die gewünschte, so drückt man sie mit dem Pinsel oder der Schnepfenfeder (p. 94) leicht an, lässt einen Augenblick erkalten und kann nun einen Glycerintropfen als Einschlussflüssigkeit auf sie bringen und das Deckglas auflegen, ohne ein Verschieben der Schnitte befürchten zu müssen.

2. *Aufkleben mit Gummi-Lösungen* (FLÖGEL, FRENZEL). Gummilösungen empfehlen sich zumal für solche Schnitte, welche ein längeres Trocknen vertragen können. FLÖGEL löst reines Gummi arabicum in 20 Theilen Wasser, filtrirt und setzt etwas Alkohol hinzu. Hiermit bestreicht man den Objectträger, bringt die Schnitte darauf und lässt trocknen. Bei sehr zarten Schnitten empfiehlt es sich, Objectträger zu nehmen, deren Gummischicht bereits trocken ist. Die fast trockenen Schnitte werden auf derselben angeordnet, das Ganze wird angehaucht und einige Augenblicke zum Trocknen bei Seite gelegt, wodurch die Objecte soweit auf ihrer Unterlage haften, dass sie nun ohne Verschieben eingeschlossen werden können. — FRENZEL versetzt dünne Gummilösung mit wässeriger Chromalaunlösung und fügt wenig Glycerin und Alkohol zu. Die bestrichenen und mit den Schnitten versehenen Objectträger müssen eine Viertelstunde lang auf 30 bis 45 ° erhitzt werden, wodurch die Gummischicht unlöslich wird (besonders für Balsampräparate).

3. *Aufkleben mit Eiweisslösung* (P. MAYER). Diese vortreffliche Methode besteht in Folgendem. Man mischt:

| | |
|---|---|
| Hühnereiweiss . . . . . . . . | 50 cc |
| Glycerin . . . . . . . . . . | 50 „ |
| Natriumsalicylat . . . . . . | 1 g |

unter tüchtigem Umschütteln und filtrirt; die Lösung ist haltbar. — Auf einen Objectträger trägt man mit einem Pinsel eine dünne Lage des Klebemittels, legt die Schnitte ein und erwärmt einige Minuten auf einem Wasserbade. Dann taucht man die Objectträger in Alkohol, spült mit Wasser ab und kann in Glycerin einschliessen. Handelt es sich um Paraffinschnitte (p. 112), die in Balsam eingeschlossen werden sollen (p. 176), so löst man von den aufgeklebten Objecten das Paraffin durch Eintauchen in Terpentinöl, giebt den Balsam zu und legt das Deckglas auf. Die auf diese Weise aufgeklebten Schnitte können aus Alkohol oder Wasser mit ihrem Objectträger auch in Tinctionsflüssigkeiten gelegt werden, um nachträglich eine Tinction zu erzielen (p. 153, 158).

4. *Aufkleben mit Collodium-Nelkenöl* (SCHÄLLIBAUM) ist besonders für Schnitte geeignet, welche in Balsam eingeschlossen werden sollen:

| | |
|---|---|
| Celloïdin . . . . . . . . . | 0·5 g |
| Alkohol, absolut, . . . . . | 15 cc |
| Aether . . . . . . . . . . | 15 „ |
| Nelkenöl . . . . . . . . . | 45 „ |

Man löst zunächst das Celloïdin in dem Alkohol-Aether-Gemisch und setzt dem entstandenen Collodium nachträglich das Nelkenöl zu. Es entsteht eine klare, gelblichbraune Flüssigkeit. (Statt des Nelkenöls kann auch Lavendelöl genommen werden.) Man streicht eine dünne Schicht auf den Objectträger, ordnet die Schnitte in derselben an und erhitzt 5 bis 10 Minuten über einem Wasserbade um das Nelkenöl zu verflüchtigen. Die Schnitte haften nun fest und können mit Terpentin, Chloroform, Alkohol, Wasser u. s. w. behandelt werden ohne sich abzulösen. Nachträgliche Tinctionen sind hier gleichfalls möglich. — Nach SUMMERS lässt sich das Nelkenöl ganz vermeiden; die Schnitte kommen in die dünne Collodiumschicht und haften an der Glasfläche, sobald das Lösungsmittel des Celloïdins verdunstet ist.

Sollen die auf den Objectträger festgeklebten Schnitte in Canadabalsam oder ein anderes Harz (p. 175 ff.) eingeschlossen werden, so ist das Dauerpräparat bald hergestellt. Man befeuchtet die Schnitte mit dem Lösungsmittel des betreffenden Harzes, giebt einen Tropfen dieses darauf, legt das Deckglas auf und lässt einige Tage trocknen, wenn nöthig zwischen dem kleinen p. 177 Figur 141 abgebildeten Apparate: das Präparat ist fertig.

Umständlicher ist die Sache, wenn in Glycerin oder eine andere Flüssigkeit eingeschlossen werden soll; dann müssen die Präparate mit einem abschliessenden Lackrahmen versehen sein. Einen solchen sollten auch die Gelatinepräparate (p. 174) erhalten; er ist hier zwar nicht unumgänglich nöthig, aber bei der leichten Erweichbarkeit der Gelatine entschieden zu empfehlen.

Von den zahllosen, zum Umrahmen mikroskopischer Präparate in Vorschlag gebrachten Lacksorten sind nur wenige wirklich brauchbar; die meisten bekommen nach kürzerer oder längerer Zeit Risse und Sprünge und geben dann das Präparat bald dem Verderben anheim. Nach jahrelangen Versuchen über die Haltbarkeit der verschiedensten Mikroskopirlacke kann Verf. nur die folgenden empfehlen, die man am besten von den Händlern mikroskopischer Utensilien bezieht.

1. *Asphaltlack*, ist eine Lösung von Asphalt in Leinöl und Terpentin. Zu steif gewordener wird mit Terpentinöl verdünnt. Die allerbesten Marken des Handels leisten, geschickt gehandhabt, für mikroskopische Zwecke die besten Dienste, sie reissen nie. Die Lackrahmen werden schwarz, glänzend, undurchsichtig.

2. *Bernsteinlack*, zuerst vom Verf. für mikroskopische Präparate empfohlen, wird gegenwärtig mit Recht viel verwandt, ist vollkommen zuverlässig haltbar und besitzt vor allen anderen Lacksorten eine nicht hoch genug zu schätzende Tugend: er löst sich, völlig erhärtet, nicht in Cedernholzöl[1]. Cedernholzöl löst alle anderen haltbaren Lacke; betrachtet man solche Präparate mit Oelimmersionen und ist nicht sehr vorsichtig, so verschmieren die Präparate und die Frontlinsen der Systeme — eine Unannehmlichkeit, die man bei Bernsteinlack nicht zu befürchten hat. Die Lackrahmen sind bernsteinfarbig, durchsichtig[2].

3. *Maskenlack*, dem Asphaltlack äusserlich ähnlich, enthält wahrscheinlich Kienruss, das Fluidum ist wenigstens zum Theil Alkohol; zu steif gewordener wird mit Alkohol verdünnt. Die Rahmen sind denen des Asphaltlacks ähnlich, gleichfalls haltbar.

4. *Paraffin-Canadabalsam*, von Apathy empfohlen, kann man sich leicht darstellen durch Zusammenschmelzen gleicher Gewichtstheile käuflichen Canadabalsams und Paraffins. Man erhitzt in einer Porcellanschale das Gemisch so lange, bis keine Terpentindämpfe mehr bemerkbar sind und das Ganze eine goldgelbe Farbe angenommen hat. Bei gewöhnlicher Temperatur ist das Gemisch hart, verflüssigt sich beim Erwärmen und wird mit erwärmtem Glasstab oder erwärmtem Messingdraht zum Umrahmen der Präparate verwandt.

Die Herstellung des verschliessenden Lackrahmens kann auf verschiedene Weise bewerkstelligt werden, auch erleidet die Procedur kleine Abänderungen, je nachdem man unter eckigen oder unter runden Deckgläschen einschliesst. Wir wollen daher den Verschluss eckiger oder runder Deckgläser getrennt besprechen.

Nehmen wir an, wir hätten unter einem viereckigen Deckglase unser Präparat in Glycerin liegen, und die Menge des Glycerins soll genau so bemessen sein, dass sie den Raum zwischen Objectträger und Deckglas vollständig ausfüllt, dass aber am Rande nichts übergetreten ist. Es ist anfänglich nicht leicht, die Menge des zu verwendenden Glycerins so genau abzuschätzen; hat man dasselbe zu reichlich be-

[1]) Man kann ein fertiges, in Bernsteinlack eingeschlossenes Präparat selbst tagelang in Cedernholzöl hineintauchen, ohne dass der Lackrahmen im geringsten weich wird.

[2]) Der Bernsteinlack wird hergestellt von Ed. Pfannenschmidt, Lackfabrik, Danzig.

messen, so bleibt weiter nichts übrig, als das Object nochmals umzulegen. Wir wollen also annehmen, dass die Menge gerade die richtige war. Wir erwärmen nun unser eben beschriebenes Paraffin-Canadabalsam-Gemisch, desgleichen einen Stricknadel-dicken, in ein Holzheft gefassten Messingdraht, heben mit ihm ein Wenig des Gemisches hervor und betupfen damit leicht die vier Ecken des Deckglases, so dass gleichzeitig diese wie der Objectträger von den vier Tröpfchen berührt werden. Wir warten nun einige Augenblicke bis die Tröpfchen erstarrt sind, und wir haben nun zunächst das Deckgläschen mit dem Objectträger fest verbunden, es vor späteren Verschiebungen gesichert. Jetzt nehmen wir an den wiederum erwärmten Draht etwas mehr des Gemisches und verstreichen von Tröpfchen zu Tröpfchen zunächst zwei gegenüberliegende Seiten des Deckglases mit sanftem, aber resolut geführtem Striche. Dann folgen die beiden anderen Seiten, und der erste Verschlussrahmen ist fertig. Allein so glatt verläuft die Sache leider nicht immer. Beim Verstreichen der ersten beiden Seiten wird häufig an einer Stelle der noch offenen ein wenig Glycerin hervorgepresst. In diesem Falle lässt man beim Verstreichen des zweiten Seitenpaares jene Stelle frei. Nach Erkalten des Rahmens saugt man an der freien Stelle das überschüssige Glycerin mit einem kleinen spitzen Pinsel ab, wäscht mit einem anderen, in Terpertin getauchten Pinsel die letzten Spuren fort und ergänzt nun erst die Lücke des Rahmens. Das mit dem ersten Rahmen umgebene Präparat lässt man am besten ein Paar Tage vor Staub geschützt liegen, um sich zu vergewissern, dass der Rahmen dicht hält. Ist inzwischen irgendwo Glycerin ausgetreten, so wird es mit dem Terpentinöl-Pinsel entfernt und der Rahmen nachgebessert. Alsdann trägt man über den ersten Rahmen einen zweiten von Asphalt-, Masken- oder Bernsteinlack. Dazu benutzt man einen kleinen, conisch zugehenden, an der Spitze etwas stumpf geschnittenen Pinsel (Figur 107 a. p. 94), den man in einen langen Holzstiel gefasst hat und während des Nichtgebrauches in ein mit dem Lösungsmittel des betreffenden Lackes (Terpentinöl, Spiritus) theilweise gefülltes Cylinderchen tauchen lässt. Der aufzutragende Lack darf weder zu dünn- noch zu dickflüssig sein, er darf z. B. unter keiner Bedingung Faden ziehen, es darf nicht zu viel Lack in den Pinsel genommen werden, und derselbe soll nur in dünner, aber gleichmässiger Schicht so über den ersten Rahmen aufgetragen werden, dass er nach innen und aussen über diesen etwas übergreift. Man glaube ja nicht, dass dicke und massige Lackrahmen besser halten als dünne, gleichmässige; in Wirklichkeit ist gerade das Gegentheil der Fall. Dieser zweite Lackrahmen muss

mindestens eine Woche lang trocknen; und ist sorgfältig verfahren, so wird das Präparat (vom Ansehen Figur 142 a. p. 180) dauernd haltbar sein.

Manche verwenden zur Herstellung des ersten Rahmens Wachs oder Paraffin (Fol). Wachs ist entschieden zu verwerfen, da es viel zu spröde ist, Paraffin ist schon besser, wird aber von der oben angegebenen Mischung bei weitem übertroffen. Da die Handhabung des Paraffins ebenso umständlich ist, so sollte man jene stets vorziehen. — Dahingegen hat kürzlich Hansen eine empfehlenswerthe Methode angegeben, speciell Glycerinpräparate dauernd zu dichten: sie besteht darin, den ersten Rahmen von Glyceringelatine herzustellen. Diese Methode ist besonders Anfängern zu empfehlen, denn, da die Gelatine sich mit Glycerin mischt, so schadet es nichts, wenn dabei die Deckglasränder nicht ganz rein von Glycerin sind. Ein zweiter Lackrahmen wird in der beschriebenen Weise angebracht. — Beiläufig mag übrigens erwähnt werden, dass auch die Apathy'sche Masse nicht allzu empfindlich gegen Spuren übergetretenen Glycerins ist.

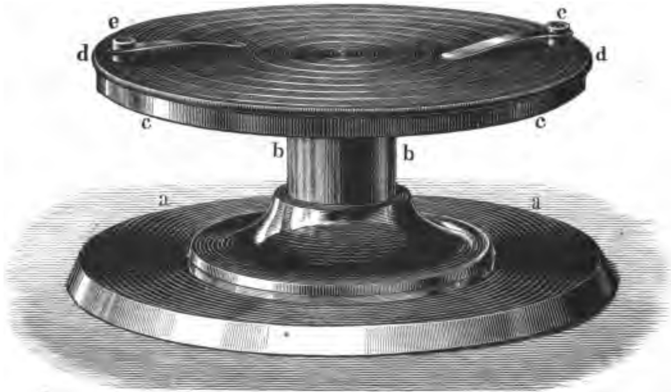
Vergegenwärtigen wir uns nun, was geschieht wenn ein um ein Glycerinpräparat gelegter Lackrahmen trocknet oder erstarrt. Jeder trocknende oder erstarrende Körper ändert bekanntlich sein Volumen, er zieht sich zusammen, und der Lack übt nun natürlich im trockenen Zustande einen Druck auf das verschliessende Deckglas, somit auf das unter diesem liegende mikroskopische Object aus. Letzteres befindet sich also in dem fertigen Dauerpräparate unter einem Druck, der grösser ist als der, welcher vom Gewicht des Deckgläschens und Rahmens allein ausgeübt werden würde. Für widerstandsfähige Objecte, Schnitte durch holzige und auch krautige Stengel und dergleichen schadet ein solcher Druck gar nichts; sehr zarte Präparationen müssen aber vor demselben geschützt werden. Es geschieht dadurch, dass man unter das Deckglas gleichzeitig Fremdkörper mit einschliesst, welche dicker sind als das Object. Sehr bequem sind hierzu kleine Wachskügelchen zu verwenden, die man in die Nähe der Deckglasecken bringt und nach Auflegen des Gläschens durch gelindes Aufdrücken im gewünschten Grade abplattet. Auch Abschnitte von Menschen- oder Pferdehaaren lassen sich verwenden, die man, falls die Schnitte auf den Objectträger aufgeklebt werden, seitlich mit festklebt. Man kann sich auch mit einem Glaserdiamanten dünne Streifchen von Deckglas schneiden und zwei derselben rechts und links von den Schnitten mit festkleben (man vergl. auch p. 162).

Gewiss seltener ereignet es sich, dass man massige, voluminöse Objecte einschliessen muss, denen die capillare Flüssigkeitsschicht zwischen Objectträger und Deckglas zu niedrig ist. Dann bleibt weiter

nichts übrig, als vorher auf den Objectträger eine Glaszelle aufzukleben (Figur 138 a. p. 163), den Innenraum dieser mit Glycerin etc. zu füllen, das Object hineinzubringen, das Deckglas unter Vermeidung jeder Luftblase aufzulegen und oben auf der Glaszelle durch die üblichen Lackrahmen zu verschliessen. —

Der in Vorigem beschriebene Verschluss von Dauerpräparaten mit eckigen Deckgläsern leidet an manchen Unbequemlichkeiten, welche dann in Wegfall kommen, wenn man statt der eckigen kreisrunde Deckgläser verwendet. In zweiter Linie spricht für die Anwendung runder Deckgläser auch der Umstand, dass man mit ihnen den Präparaten ein viel gefälligeres Aeusseres zu geben vermag. Zur Anwendung runder Deckgläser ist der Besitz eines kleinen, Drehtisch genannten Instrumentes erforderlich.

Der Drehtisch (Figur 143) besteht aus einem schweren, mit Blei ausgegossenem Messingfusse (*a*), auf dem sich eine starke Hülse *b*

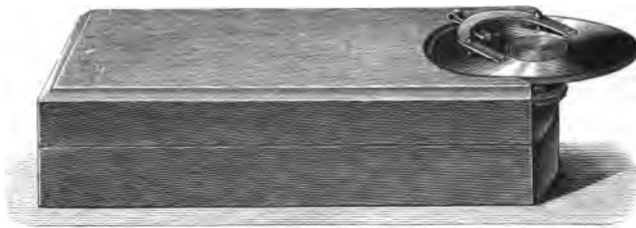



143.

erhebt. Diese ist hohl und am unteren Ende mit einem conischen Zapfenlager versehen, in welchem die unten conisch abgeschliffene, stählerne Verticalachse, die von der Unterseite der Messingscheibe *c* ausgeht, ruht. Durch die Ränderirung *d* kann diese Scheibe mit dem Finger in horizontale Umdrehungen versetzt werden. Zwei federnde Klammern *ee* dienen dazu, den Objectträger auf der Scheibe festzuklammern. Der Mittelpunkt der Scheibe ist markirt und von eingeritzten, concentrischen Kreisen umgeben. — Eine noch bequemere Form des Drehtisches hat Frey angegeben (Figur 144), an dem sich

zum ruhigen Auflegen der Hände ein Holzgestell von der durch die Figur verdeutlichten Gestalt befindet.

Zum Einschluss mit runden Deckgläschen verfahren wir nach einer dem Verf. durch jahrelange Uebung bewährten Methode folgendermaassen. Ein ganz rein und blank geputzter Objectträger wird vermittels der Klammern *e* so auf dem Drehtische (Figur 143) festgespannt, dass seine Mitte mit dem Mittelpunkte der Scheibe *c* zusammenfällt. Das kann sehr leicht bewerkstelligt werden, wenn man die auf *c* eingeritzten Kreise zur Lage des Objectträgers in Betracht zieht. Mit dem auf p. 185 beschriebenen Lackpinsel holt man nun ein kleines Tröpfchen ziemlich dünnflüssigen Bernsteinlack hervor, hält ihn an geeigneter Stelle senkrecht über den eingespannten Objectträger, setzt die Drehscheibe in langsam rotirende Bewegung, drückt den Pinsel einen Augenblick senkrecht nieder, hebt ihn wieder hoch und hat nun

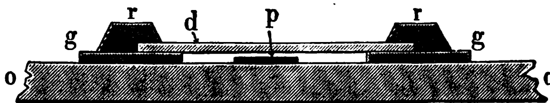


144.

auf dem Objectträger einen zierlichen, transparenten, ganz niedrigen Lackring verfertigt. Der mittlere Durchmesser dieses Ringes muss dem des zu verwendenden Deckglases entsprechen; will man z. B. ein Deckgläschen von 15 mm Durchmesser verwenden, so soll der innere Durchmesser des Ringes etwa 13, der äussere etwa 17 mm betragen. Vor Staub geschützt lässt man diesen Lackring halb trocknen. (Er kann auch ganz trocken werden, man kann also derartige Objectträger zahlreich im Vorrath darstellen.) Sodann bringt man innerhalb des Ringes einen Tropfen Glycerin von entsprechender Grösse an, trägt die Schnitte ein, ordnet mit der Schnepfenfeder, drückt sie sanft nieder und legt das sorgfältig gereinigte und mit trockenem Pinsel abgebürstete Deckglas, wie auf p. 135, auf, natürlich so, dass seine Peripherie die Mitte des Lackringes deckt. Bei einiger Uebung breitet sich das Glycerin ganz gleichmässig unter dem Deckglas aus, auch über den Lackring, soweit er vom Deckglase berührt wird.

Nun kann man sogleich einen Verschlussring anlegen, nachdem man vielleicht vorher das Deckglas durch einige Tropfen von Lack oder Apathy'scher Masse (p. 184) festgelegt hatte. Man centrirt das Deckglas zunächst auf dem Drehtische, indem man den Objectträger so lange verschiebt, bis eine senkrecht über die Peripherie des Deckglases gehaltene Präparirnadel während einer ganzen Rotation der Scheibe senkrecht über allen Punkten der Peripherie bleibt. Nun holt man mit dem Lackpinsel einen kleinen Tropfen Bernsteinlack hervor, hält den Pinsel in senkrechter Stellung über die Peripherie des Deckglases, versetzt den Drehtisch in äusserst langsame Drehung und lässt durch Senken des Pinsels den Lack gleichmässig um die Peripherie fliessen. Durch Wiederholen dieser Procedur kann man den Verschlussring sogleich verstärken. Die Lackringe werden bei einiger Geschicklichkeit äusserst zierlich, und diese Geschicklichkeit kann man sich ungemein leicht aneignen. Nunmehr lässt man den Lackring einige Tage trocknen und prüft ihn auf seine Dichtigkeit. Sollte an einer Stelle Glycerin ausgetreten sein, so wird es, wie oben, mit dem Terpentinöl-Pinsel entfernt, und es wird nun ein zweiter, etwas breiterer Lackring über den ersten gelegt. Ebenso wie man mit Bernsteinlack verfährt, werden die anderen Verschlusslacke behandelt.

Ein nach der soeben beschriebenen Methode hergestelltes Präparat würde auf dem Durchschnitt so aussehen, wie es Figur 145 zeigt. Auf



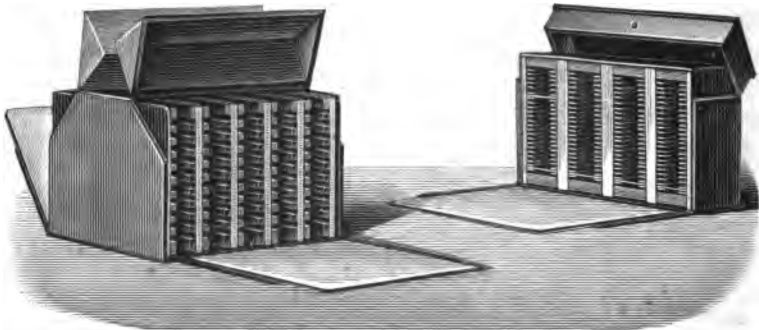

145.

dem Objectträger *o* befindet sich zunächst eine Lackschicht *g*, dann folgt das Deckglas *d*, dann wieder eine Lackschicht *r*. Den unteren Rahmen *g* kann man so dick wählen, dass er das Object *p* an Höhe übertrifft, er schützt dann also das Object völlig vor Druck. Die Vortheile dieser Einschlussmethode vor der oben für die eckigen Deckgläser beschriebenen sind in die Augen springend: Der Rahmen *r* haftet auf *g* unter jeder Bedingung, wenn er nur einen Angriffspunkt findet. Solche Präparate werden eigentlich nie undicht, und wir empfehlen daher diese Einschlussmethode auch für die eckigen Deckplättchen.

Will man die Objecte vor dem Einschluss aufkleben, so ist dies allerdings in dem Lackrahmen *g* etwas unbequemer, allein es giebt ein

sehr einfaches Mittel, dieser Unbequemlichkeit aus dem Wege zu gehen. Man braucht nämlich die Objecte nur statt auf den Objectträger, auf die Unterseite des Deckglases festzukleben. Es geschieht genau in derselben Weise, als wenn man sie auf den Objectträger klebt, und es ist eigentlich auch viel rationeller, dieselben an dem Deckglase festzuheften.

Ist nun durch längeres Liegen der Präparate der letzte Lackrahmen völlig trocken geworden, so werden die Objectträger mit einem Leinentuche gesäubert, und sie werden dann rechts und links je mit einer Etiquette versehen (Figur 142 a. p. 180), welche ausweisen, was das Präparat enthält. Entweder wählt man dazu die bekannten käuflichen, perforirten und auf der Rückseite gummirten Etiquetten von einer passenden Grösse, oder man lässt sich solche durch Steindruck eigens für

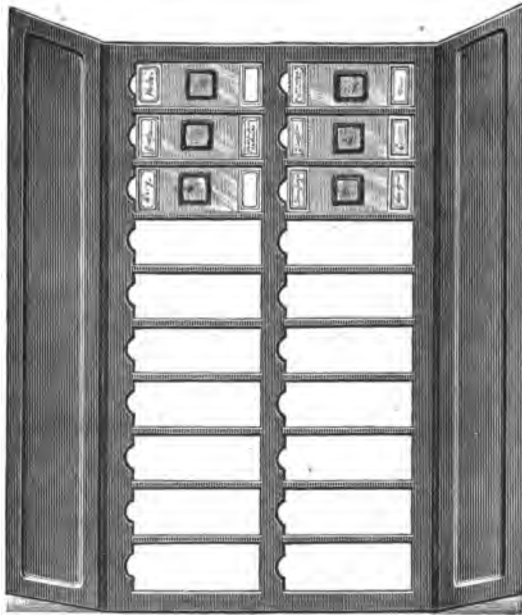


146. 147.

den Zweck herstellen. In diesem Falle empfiehlt es sich, hellgrünes Papier zu wählen, auf welchem man Schmutzflecke weniger leicht sieht als auf weissem. Der Aufdruck (Umrandung und etwa der Name des Besitzers) wird schwarz, oder bei hellgrünem Papier in Gold gewählt, eine bequeme Grösse für englisches Objectträger-Format ist z. B. 22 × 20 mm. Das Aufkleben der Etiquetten auf den Objectträger geschieht durch eine d ü n n e Schicht Gummi arabicum; ist letztere dünne genug, so haften sie mit genügender Sicherheit am Glase, und es dürfte überflüssig sein, die Objectträger nach Fol mit einer Lösung von Chloralaungelatine in Essigsäure zu bestreichen, um ein unbedingtes Haften der Etiquetten am Glase zu erreichen.

Die Aufschrift auf den Etiquetten soll folgende Punkte umfassen: 1) Namen der Pflanze, der das Präparat entnommen ist, 2) Organ, welches das Object lieferte, 3) Angabe, welche Theile des letzteren prä-

parirt wurden, 4) Art des Schnittes, 5) Art der Zubereitung des Objectes, 6) Angabe der Einschlussmasse, 7) Datum der Anfertigung, 8) bei sehr schwierigen Objecten auch Angabe der Deckglasdicke. Z. B. linke Etiquette: Aspidium filix femina, Rhizom, isolirte Treppengefässe; rechte Etiquette: Macerationspräparat, Hausenblasen-Glycerin, Deckglasdicke 0·18 mm, 10. IX. 89. Oder, linke Etiquette: Hyacinthus orientalis, Keimwurzel, mit FLEMMING'scher Lösung fixirt, Längsschnitt: Kerntheilungen; rechte Etiquette: Paraffineinbettung, ting. m. Gentianaviolett, Canadabalsam, 3. VI. 88.



148.

Um mikroskopische Präparate aufeinander legen zu können, ohne Lackrahmen und Deckgläser zu beschädigen, pflegte man dieselben rechts und links vom Deckglase mit Leistchen von Carton oder Glas zu versehen, die den Verschlussrahmen an Höhe übertrafen. Diese sogenannten Schutzleisten sind aber das Unpraktischste, was je ausgesonnen wurde, und sie sind auch heute, wo die Construction der Cartons zum Aufbewahren mikroskopischer Präparate so grosse Fortschritte gemacht hat, völlig zu entbehren.

Um die Herstellung rationeller Präparatencartons hat sich in den letzten Jahren TH. SCHRÖTER in Leipzig sehr verdient gemacht. Er liefert dieselben in den verschiedensten Formen und Grössen zu sehr mässigen Preisen. Figur 146 und 147 zeigt zwei solche aus seiner Fabrik in Kästchenformat, in welchen die Präparate, die einzelnen durch Zahnleisten von einander getrennt, horizontal über einander aufgeschichtet werden. Es sind nämlich nur diejenigen Präparatenkästchen zum längeren

Aufbewahren der Präparate zu empfehlen, in denen die letzteren horizontal ruhen; es giebt auch solche, in denen sie eine senkrechte Lage einnehmen. Diese sind aber, wenigstens für Glycerinpräparate, ganz zu verwerfen, weil sich die Objecte in senkrecht ruhenden Präparaten bald senken, sich in die Nähe des Deckglases begeben. Eine der Kästchen- oder Buchform noch vorzuziehende Construction ist das Tafelformat, von dem wir in Figur 148 die für englische Objectträger gewählte Grösse abgebildet sehen. Diese Tafeln werden mit zugeklapptem Deckel auf einander geschichtet, mit einem starken Gummibande versehen, resp. geschlossen, sind sehr billig und nehmen sehr wenig Raum ein [1].

* * *

Eine besondere Art der Präparation erfordern die zu Testobjecten (p. 58) benutzten Diatomeen. Es wird zwar nicht häufig vorkommen, dass man sich selbst Testobjecte herzustellen hat, denn es ist, um der Umständlichkeit der Präparation aus dem Wege zu gehen, am besten, derartige Präparate käuflich zu erwerben. Wir können daher hier auch nur einige Fingerzeige zur Herstellung derselben geben, indem wir im übrigen auf die einschlägigen Arbeiten von Debes [2] u. A. verweisen.

Das zu verarbeitende Diatomaceen-Material ist meist mit Schlamm- und Sandtheilchen gemischt, weshalb es nöthig wird, diese Unreinigkeiten vorerst durch kleine, aus Seidengaze verschiedener Durchlässigkeit bestehende Siebe allmählig abzusondern. In anderen Fällen lässt man den die Diatomeen enthaltenden Schlamm auf einem flachen Teller ruhig absetzen; die Diatomeen sammeln sich dann, ihrem Lichtbedürfniss entsprechend, auf der Oberfläche der Schlammschicht an und können mit einem weichen Pinsel abgestreift werden. Am bequemsten ist die Präparationsart, wenn die Diatomeen als Auftrieb an den Meeresküsten vorkommen (wie z. B. die vielgebrauchten Testdiatomeen Pleurosigma angulatum und P. balticum). Dann braucht man von diesem Auftrieb nur eine genügende Menge in Alkohol aufzubewahren, um für spätere Präparation völlig reines Material zu haben. — Ist das Material genügend

[1]) In 50 Tafeln ruhen 1000 Präparate; sie beanspruchen einen Raum von 39 × 21 × 35 cm. Eine Tafel (zu 20 Präparaten) kostet 50 Pf., was für das Präparat 2·5 Pf. macht. Rechnet man dazu, dass ein Objectträger von weissem Glase mit geschliffenen Kanten 3·5 Pf., ein Deckglas (rund 15 mm) 2·0 Pf. kostet, so ergiebt das für Zuthaten für ein Präparat die geringe Ausgabe von 8 Pf.

[2]) Cfr. Debes, E., Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie Bd. II, 1885, p. 411, 567; Bd. III, 1886, p. 27, 330; Bd. VI, 1889, p. 283.

rein, so muss durch Kochen mit Schwefelsäure und Kaliumbichromat eine Zerstörung der organischen Substanz und eine Spaltung der Schalen bewerkstelligt werden, da, wie bekannt, je zwei Diatomeenschalen in der Weise wie Schachtel und Deckel an einander gefügt sind. Der Spaltung folgt länger fortgesetztes Auswaschen durch Absetzenlassen der Diatomeen, Decantiren der darüberstehenden Flüssigkeit und Ersetzen derselben durch destillirtes Wasser, dessen erster Portion man etwas Ammoniak zufügte. Das fertige Material wird bis zur Verwendung in Alkohol aufbewahrt.

Die Testdiatomeen müssen je nach ihrer Art und je nach dem Zwecke, dem sie dienen sollen, in Luft (Pleurosigma angulatum, P. attenuatum, Surirella Gemma, Nitzschia Sigma, N. sigmoidea, N. obtusa, Navicula rhomboïdea), Balsam (Pleurosigma balticum, Grammataphora marina, G. subtilissima) oder Monobrom-Naphthalin (Nitzschia linearis, N. curvula, Frustulia saxonica, Amphipleura pellucida) eingeschlossen sein. Im einen wie im anderen Falle ist es gut, wenn sie am Deckglase haften. Denn dann wird es, die Deckglasdicke als bekannt vorausgesetzt, ein leichtes sein, Correctionssysteme (p. 25) auf den richtigen Correctionszustand zu bringen, was zur Beurtheilung der optischen Leistung derselben unbedingt nöthig ist. Das Anheften der Diatomeen auf der Deckglasunterseite geschieht dadurch, dass man dasselbe mit einer sehr dünnen Schicht einer alkoholischen Lösung von gebleichtem Schellack überzieht, auf dieselbe die Diatomeen aus Alkohol überträgt und durch Verdunsten der Flüssigkeit antrocknen lässt. Sollen sie in Luft eingeschlossen werden, so genügt diese Procedur, kommen sie in Balsam oder Monobromnaphthalin, so müssen sie vorher durch nachträgliches Glühen des Deckglases auf einem Platinblech (p. 131) an selbiges angeschmolzen werden, eine Operation, die nicht leicht ist und eine längere Uebung verlangt. Im übrigen werden die Diatomeen-Testobjecte in derselben Weise hergestellt, wie es im Verlaufe dieses Capitels beschrieben wurde.

---

## XII. Die Beobachtung mit dem Mikroskop.

Die Kunst oder die Fähigkeit, mit dem Mikroskope zu beobachten, lässt sich aus Büchern nicht lernen. Sie wird am besten erlernt unter der Anleitung eines in dieser Kunst bereits Bewanderten. Es wäre daher auch unnütz, wollten wir hier eine derartige Anleitung versuchen.

Aber wir wollen zum Schluss doch noch auf einige Punkte zu sprechen kommen, die bei mikroskopischen Beobachtungen nicht ausser Acht gelassen werden dürfen.

Wenn man einem Laien ein Mikroskop zeigt, so pflegt dessen erste Frage zu sein: „Wieviel mal vergrössert dasselbe?“ Denn der Laie ist wohl ausnahmslos der Meinung, dass ein Instrument um so besser sei, je stärkere Vergrösserungen es erlaubt. Auch der angehende Mikroskopiker pflegt derselben Ansicht zu sein, und er meint weiter, dass man nur recht starke Vergrösserungen anzuwenden brauche, um über die Beschaffenheit eines Präparates in's Klare zu kommen. Nun ist aber thatsächlich nicht dasjenige Mikroskop das beste, welches recht starke Vergrösserungen zulässt, sondern im Gegentheil das, welches bereits bei möglichst schwachen Vergrösserungen möglichst Viel zeigt (p. 53—61). Bei Anwendung starker Vergrösserungen überblickt man stets nur einen sehr kleinen Theil des Präparates, und besitzt das Präparat nicht eine Feinheit, die dieser Vergrösserung angemessen ist, so sieht man auch von diesem kleinen Theile nur sehr wenig und vielleicht nichts deutlich. Ein stark vergrösserndes System besitzt eine sehr geringe Brennweite (p. 54); ein System mit geringer Brennweite besitzt aber auch eine nur sehr geringe Tiefenzeichnung (p. 56), gestattet also längst nicht in dem Maasse die Betrachtung irgendwie dickerer Schnitte, wie ein System grosser Brennweite, schwacher Vergrösserung und grosser Tiefenzeichnung. Hieraus geht hervor, dass man zu mikroskopischen Beobachtungen nie stärkere Vergrösserungen wählen darf, als zum Erkennen einer gewissen Structur unumgänglich nöthig sind, und jedenfalls soll man ein unbekanntes Präparat stets erst mit ganz schwacher Vergrösserung besehen, um sich einen allgemeinen Ueberblick über dasselbe zu verschaffen und um diejenigen Stellen ausfindig zu machen, die die Anwendung stärkerer Vergrösserungen am besten vertragen werden. Schreitet man zu stärkeren Vergrösserungen, so soll man diese nicht etwa dadurch hervorzubringen suchen, dass man bei demselben Systeme stärkere Oculare verwendet, sondern man soll ein System höherer Apertur und kürzerer Brennweite in Benutzung nehmen. Es soll ja gewiss nicht in Abrede gestellt werden, dass durch stärkere Angularvergrösserungen (p. 53), zumal bei Anwendung starker Trockensysteme oder von Immersionen, durch räumliche Verbreiterung des Bildes Manches klarer werden kann, was bei schwacher Angularvergrösserung undeutlich bleibt, denn bei stärkeren Ocularvergrösserungen erscheinen uns die Einzelheiten unter grösserem Sehwinkel; aber für gewöhnlich gilt der Satz, dass man starke Objective mit schwachen Ocularen

combiniren soll, nicht umgekehrt starke Oculare mit schwachen Objectiven.

Beim Beobachten mikroskopischer Präparate hat man weiterhin sein Augenmerk auf die richtige und ausgiebige Benutzung der Mikrometerschraube (p. 36) zu richten. Die Mikrometerschraube dient, wie wir wissen, zum Einstellen des Objectes, d. h. um das Object genau in den Brennpunkt oder die Brennebene der aus Objectiv, Ocular und Tubuslänge resultirenden optischen Combination zu bringen. Diese Brennebene kann aber bei stärkeren Systemen als eine mathematische, d. h. eine solche ohne Dicke, aufgefasst werden, denn letztere beträgt bei einem mittleren Systeme nur etwa 0·002 mm (p. 56). Die mikroskopischen Schnitte sind aber keine mathematischen Ebenen, sie sind im Gegentheil ziemlich dick; ein Schnitt von 0·01 mm Dicke gehört schon zu den dünnen. Eine Einstellung dieses Schnittes mit jenem System würde uns nur auf ein Fünftel in ihn hineindringen lassen, und wir hätten fünf verschiedene Einstellungen nöthig, um ihn von oben bis unten zu durchblicken. Und das Studium vieler auf einander folgender Einstellebenen ermöglicht uns eben erst das Verständniss des Präparates; die Mikrophotographie ist gerade aus dem Grunde zur Wiedergabe vieler mikroskopischer Schnitte ungeeignet, weil sie nur eine einzige Einstellebene zur Anschauung bringt. Erst indem wir im Geiste die verschiedenen Einstellungen eines Objectes zu einem zusammenhängenden Ganzen combiniren, geht uns ein wahres Verständniss für das Geschehene auf. Daraus folgt, dass während mikroskopischer Beobachtungen die Mikrometerschraube in ständiger Bewegung sein soll.

Ein dritter, sehr wichtiger Punkt bei der Beobachtung mikroskopischer Objecte ist die richtige Beleuchtung der letzteren. Früher, als man die Beleuchtung lediglich durch Plan- oder Hohlspiegel und einfache Diaphragmen hervorbrachte, fiel die Art derselben noch nicht so sehr ins Gewicht als heutzutage, wo die Benutzung eines Condensors immer mehr in Aufnahme kommt, mit dem, falsch angewandt, man das grösste Unheil anrichten kann. Früher, ohne Condensor, verwandte man parallele oder schwach convergente Beleuchtungsbündel, die man bei schwächeren Systemen durch grössere, bei stärkeren durch kleinere Blenden entsprechend begrenzte. Durch Herabziehen des Blendcylinders (p. 39) liessen diese Lichtkegel sich dann gewünschten Falles noch modificiren. Damals aber liess sich die Beleuchtung doch nur in engen Grenzen verändern, und der Anfänger konnte hier nicht allzuviel sündigen.

Heutzutage ist das Ding anders geworden; selbst mittlere und kleinere Stative sind mit Condensoren, vornehmlich mit der von Abbe

angegebenen Construction (p. 40), ausgerüstet und gestatten nun Beleuchtungsarten mit viel weiter gesteckten Grenzen. Der Bacteriologe Koch fand dann ausserdem, dass man sehr kleine, tingirte Körperchen, z. B. Bacterien, sehr bequem in Geweben und anderwärts aufsuchen könne, wenn man den ganzen, von einem Condensor grosser Apertur gelieferten, äusserst breitbasigen Lichtkegel zur Beleuchtung verwendete; dann verschwinden alle auf Lichtbrechungs-Verschiedenheiten beruhenden Unterschiede des Präparates, nur die Theile verschiedener Lichtabsorption bleiben sichtbar, als rothe, blaue u. s. w. Punkte, Klexe. Nun stellte sich bei den „Bacteriologen" und, da die Bacteriologen ja meist Mediciner sind, auch bei histologischen medicinischen Untersuchungen bald der Modus ein, vorwiegend oder ausschliesslich mit „offenem Condensor" zu beobachten, und die Anwendung von Blenden nur ganz beiläufig zu gestatten oder gar nicht für nöthig zu halten [1]. Wir hoffen, dass die Botaniker diesen groben Unfug nicht mitmachen werden, sondern dass sie stets eines goldenen Wortes des alten Harting [2] eingedenk sind, welcher schreibt:

„Eine gute Benutzung des Beleuchtungsapparates ist gewiss eins der besten Merkmale, um den geübten mikroskopischen Beobachter vom weniger geübten unterscheiden zu können. Während der letztere, weil er die stärkste Beleuchtung auch für die beste hält, bis zum Thränen in einem See von Licht arbeitet, worin alle feineren Einzelheiten des Bildes gleichsam ertränkt sind, wird jener dagegen das Licht soviel zu mässigen suchen, als es die Art des Objects verlangt".

Die Wirkung eines Condensors von grosser Oeffnung, also z. B. des Abbe'schen, machen wir uns am besten durch ein concretes Beispiel klar, und wir wählen hierzu das allbekannte Testobject Pleurosigma angulatum, welches wohl jedem Mikroskopiker zur Verfügung steht. Wir stellen es mit einem System von etwa 1·00 numerischer Apertur ein, suchen eine ebene, möglichst farblose Schale aus und schalten nun den Abbe'schen Condensor, und zwar ohne jede Blende, ein: wir sehen Nichts, das Bild ist verschwunden. Wir fügen nun allmählig kleiner

---

[1]) Der Verf. war vor einigen Jahren zufällig Zeuge, wie sich ein Mediciner (kein Student) bei einem Optiker ein gutes Mikroskop mit Oelimmersionen und Abbe'schem Beleuchtungsapparat bestellte. Befragt, wie viele Blenden er zu letzterem zu haben wünsche, antwortete er, Blenden brauchten überhaupt nicht beigegeben zu werden, da man solche ja nicht mehr anwendete! Schade um die schönen Oelimmersionen!

[2]) Harting, P., Das Mikroskop. Deutsche Originalausgabe von F. W. Theile. Braunschweig 1859, p. 236.

werdende Blendungen ein, oder, wenn wir im Besitz einer Irisblende (p. 42) sind, so verengern wir diese allmählig durch Drehen. Es beginnt nun nach und nach ein verschleiertes Bild mit verwaschenen Umrissen sichtbar zu werden; endlich erscheinen die bekannten Sechsecke (Figur 61 a. p. 58), und bei gewisser Grösse der Blendung werden diese gleichmässig über das ganze Gesichtsfeld sichtbar sein, obgleich die Umrisse der Diatomee noch zu wünschen übrig lassen. Wir verengern die Blende noch mehr, die Umrisse nehmen immer schönere, schärfere Linien an, aber zugleich zeigt sich, dass die Sechsecke nur noch in einem Theile des Gesichtsfeldes deutlich sind, z. B. im mittleren Drittel, nach den Seiten zu werden sie verschwommen; das Gesichtsfeld erscheint gewölbt. Wollen wir die seitlich gelegenen Sechsecke sehen, so müssen wir die Einstellung etwas ändern. Nehmen wir eine noch engere Blende, so zeigt sich, dass die Umrisse allmählig viel undeutlicher werden, es treten erst schmale, dann breitere Schatten, sogenannte Diffractionssäume an ihnen auf, die ihren Ursprung den bekannten Fresnel'schen Beugungserscheinungen verdanken.

Diese Erscheinungen, die sich noch viel auffälliger durch die photographische Platte wiedergeben lassen, als sie dem mit Irisblende versehenen und arbeitenden Auge erscheinen, lehren uns, dass es für jedes Objectivsystem eine Grösse des beleuchtenden Lichtkegels giebt, die uns die zu studirenden Verhältnisse am deutlichsten und besten vor Augen führt. Wenden wir weite Blenden an, wodurch also der wirksame Beleuchtungskegel einen grossen Oeffnungswinkel erhält, so können wir uns vorstellen, dieser Beleuchtungskegel bestände aus einem ganzen Bündel engerer, die aber das Object unter verschiedenen Winkeln treffen. Jeder dieser engen Beleuchtungskegel, können wir uns weiter denken, erzeugt für sich ein Bild, alle erzeugten Bilder lagern sich je nach der Schiefe der Kegel verschieden übereinander und geben als Resultat ein verwaschenes, unbestimmtes, bei wachsendem Beleuchtungskegel sogar verschwindendes Gesammtbild. Mit Verengerung des Beleuchtungskegels werden die randständigen Einzelbilder allmählig ausgelöscht, je axialer seine Lichtstrahlen gerichtet sind, desto genauer fallen die Einzelbilder übereinander, desto schärfer werden die Umrisse. Aber gleichzeitig verschwinden feine Zeichnungen, wie z. B. die Sechsecke des Pleurosigma, theilweise, die bei grösseren Beleuchtungskegeln noch sichtbar waren, und zwar aus dem Grunde, weil bei den grossen Beleuchtungskegeln schief einfallende Strahlen noch wirksam werden, die feine, bei centraler Beleuchtung unsichtbare Einzelheiten zur Abbildung bringen (p. 58—61). — Endlich verbietet das Auftreten stören-

der Diffractionssäume eine weitere Verengerung des beleuchtenden Lichtkegels.

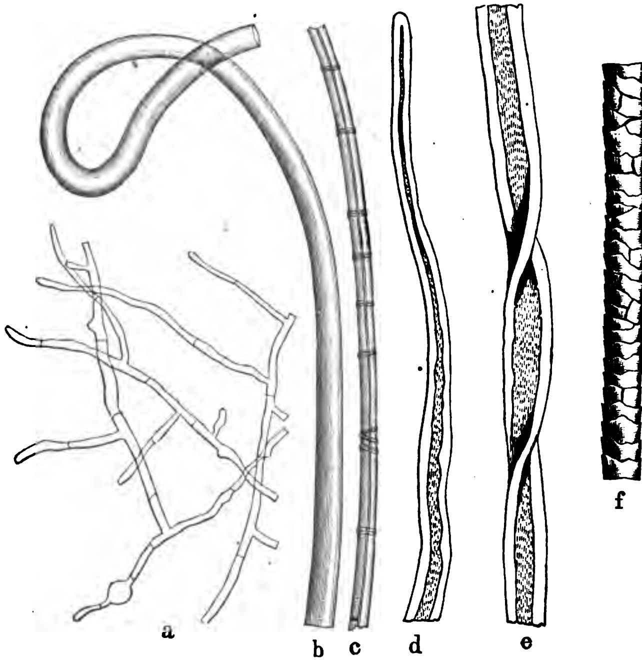
Welchen Oeffnungswinkel des Beleuchtungskegels, beziehungsweise welche Blendengrösse man für ein Object zur Beobachtung zu wählen habe, hängt von der Beschaffenheit des letzteren, von seiner Dicke, von der Intensität der Beleuchtung und manchen anderen Dingen ab. Der im Beobachten mit dem Mikroskope Geübte sieht es dem mikroskopischen Bilde an, ob es die richtige Beleuchtung besitzt, er hat ein nicht zum Bewusstsein kommendes Gefühl dafür, ob das Object richtig beleuchtet ist oder nicht. Für den Anfänger hingegen ist hier guter Rath theuer. Er wird jedoch, wenn er nicht weiss, welches Maass der Beleuchtung er anwenden soll, am besten thun, einen Beleuchtungskegel von der Oeffnung zu wählen, die ein Drittel der Oeffnung des zur Beobachtung verwandten Objectivsystems beträgt.

Um diesen Beleuchtungskegel zu erzeugen, verfährt man auf folgende Weise. Man stellt mit dem betreffenden System das Object annähernd ein und entfernt nun das Ocular. Dann sieht man in der freien Objectivöffnung des Systemes eine hellleuchtende, runde Scheibe, deren Durchmesser je nach der Grösse der angewandten Blende verschieden ist. Man setzt nun eine solche Blende ein, dass der Durchmesser dieses Kreises etwa ein Drittel vom Durchmesser der freien Objectivöffnung beträgt, und hat damit die Apertur des Beleuchtungskegels auf ein Drittel der Apertur des Objectivs gebracht.

Die Angabe, dass die Apertur des Beleuchtungskegels ein Drittel der des Systems betragen solle, ist jedoch cum grano salis zu nehmen. Sie erleidet einmal Abweichungen je nach der Natur des Präparates und je nach der Intensität der Beleuchtung. Bei Anwendung diffusen Tageslichtes machen sich z. B. Diffractionssäume viel weniger bemerkbar, als etwa bei Petroleumbeleuchtung; man kann also bei schwächerer, gleichmässiger Beleuchtung die Apertur des Beleuchtungskegels stärker verringern als bei intensiver. Auch geringer Wechsel in der Beleuchtung ist im Laufe der Beobachtung nöthig (wo die Irisblende fehlt, kann ein solcher durch geringes Herabdrehen des Beleuchtungsapparates erzeugt werden). Während also beim Beobachten die rechte Hand an der Mikrometerschraube thätig ist, soll die linke den Beleuchtungsapparat bedienen.

Die Anwendung schief, seitlich einfallender Beleuchtungskegel ist nur in sehr seltenen Ausnahmefällen statthaft; der Anfänger sollte von der Anwendung schiefer Beleuchtung ganz und gar absehen. —

Dem Unbewanderten auf dem Gebiete des Mikroskopirens bietet es zuvörderst grosse Schwierigkeiten, das Wichtige und das Unwichtige eines Präparates von einander zu unterscheiden, ja in der ersten Zeit werden auch zufällig in das Präparat gelangte fremde Dinge als zu demselben gehörig angesehen. Beim Putzen der Objectträger mit Tüchern ereignet es sich wohl, dass Fäserchen dieser mit in das Präparat gelangen, und dann von dem Uneingeweihten als ein Bestandtheil des Präparates betrachtet und untersucht werden. In Figur 149 haben wir einige solche in mikroskopischen Präparaten vorkommende Dinge ab-

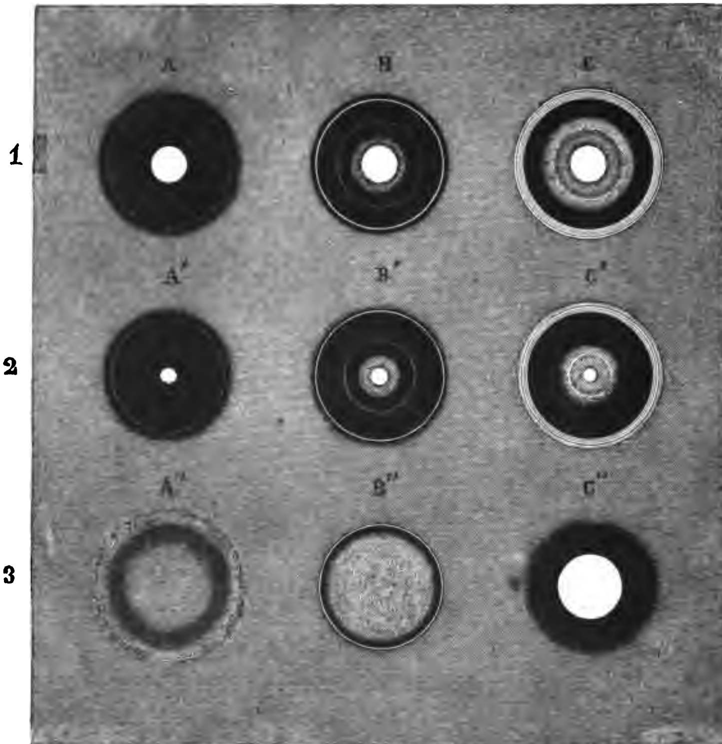



149.

gebildet; *b* ist eine Seidenfaser, *c* eine Leinenfaser, *d*, *e* sind Baumwollenfasern, *f* ist ein Wollhaar. In länger aufbewahrten, ungenügend verschlossenen Dauerpräparaten treten bisweilen Mycelwucherungen von Schimmelpilzen auf; *a* mag das Bild einer solchen Wucherung vor Augen führen.

Ein anderer, in mikroskopischen Präparaten ziemlich regelmässig auftretender, fremder Gast sind Luftblasen. Sie erscheinen, je nach der Art der Einstellung und je nach dem Medium, in welchem sie vorkommen, als schwarze Scheiben mit hellerem Centrum. Nach den Gesetzen der Lichtbrechung und der totalen Reflexion lässt sich ihr Aus-

sehen für jeden einzelnen Fall leicht theoretisch construiren; wir sehen hier davon ab, und geben vielmehr nur, nach Ranvier, ein ungefähres Bild dieser Erscheinungen. Es ist 1 (Figur 150) ein Luftbläschen, dass in Wasser befindlich ist, *A* bei tiefer, *B* bei mittlerer, *C* bei hoher Einstellung. Eine in Canadabalsam eingeschlossene Luftblase sieht ähnlich aus, ihr helles Centrum aber ist, dem höheren Brechungsindex des Balsams entsprechend, von geringerer Ausdehnung (2; *A'*, *B'*, *C'*




150.

entsprechend *A*, *B*, *C* in 1). In 3 endlich führen wir unter gleichen Modalitäten eine Flüssigkeit (Fett) in Wasser vor; hier hat die umgebende Flüssigkeit, zum Unterschiede der Fälle 1 und 2 geringeres Lichtbrechungsvermögen als das in ihr befindliche Tröpfchen.

Bisweilen sieht man über ein Präparat zerstreut dunklere Punkte und Körncheu, die nicht ganz scharf begrenzte Umrisse besitzen und deren Aussehen sich beim Wechsel der Einstellung nicht ändert. Es

sind Staubtheilchen, welche auf dem Collectivglase des Oculars lagern, wie man sich überzeugen kann, wenn man das Ocular im Tubus dreht, dann drehen sie sich mit Abschrauben des Collectivglases und Abbürsten mit einem Pinsel befreit von dieser störenden Zuthat. Staubtheilchen, welche an den Gläsern des Objectivsystems haften, erscheinen nicht im mikroskopischen Bilde, sie verschlechtern aber das Bild, und man sollte daher von Zeit zu Zeit das Objectiv auf dieselben nachsehen, ebenso wie man das Deckglas vor der Beobachtung von Staubtheilen befreien muss. —

Bevor wir von dem Leser Abschied nehmen, können wir es nicht unterlassen, ihm noch einen Punkt ganz besonders ans Herz zu legen, nämlich den, die mit dem Mikroskop gemachten Beobachtungen nicht nur dem Gedächtnisse, sondern auch dem Papier anzuvertrauen. Das Gedächtniss, selbst das beste, ist ein trügerisches Ding, es hält wohl eine Zeitlang die gewonnenen Eindrücke fest, allmählig aber verblassen dieselben unter der Wirkung der neuerlich hinzugekommenen. Mikroskopische Bilder sind sehr schwer im Gedächtnisse zu behalten, und man sollte daher letzterem mit dem Stifte in allen Fällen zu Hülfe kommen. Der Mikroskopiker sollte es sich zur Regel machen, alles nur irgendwie Wichtigere mit der Camera (p. 77 ff.) oder aus freier Hand zu z e i c h n e n. Die Zeichnungen brauchen in vielen Fällen keineswegs bis aufs Genaueste ausgeführt zu werden: das ist ja gewöhnlich auch nicht angängig, denn eine sehr sorgfältig ausgeführte Zeichnung verschlingt eine grosse Menge Zeit. Aber häufig ist auch mit skizzenhaften Umrisszeichnungen schon viel gedient. Man gewöhne sich ferner daran, nicht auf einzelne Papierstücke des verschiedensten Formates zu zeichnen, sondern in ein S k i z z e n b u c h oder wenigstens auf Papiere gleichen Formates, damit man die Zeichnungen später zusammenheften kann. Zeichnungen auf einzelnen, losen Blättern haben, falls sie nicht sehr consequent in Mappen zusammengehalten werden, viel Unbequemes; sie verlieren sich leicht oder werden wenigstens verkramt. Nun will man gerade die und die Zeichnung nachsehen, sie ist nicht zu finden, es geht ein ärgerliches und schliesslich erfolgloses Nachsuchen los, und acht Tage später, wenn man die Zeichnung schon definitiv aufgegeben hat, findet man sie ganz zufällig unter bei Seite gelegten Briefschaften.

---

# Register.

---

Buchdruckerei von Appelhans & Pfenningstorff in Braunschweig.

